

СОЗДАНИЕ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ *ORYZA SATIVA* L. С ГЕНОМ УСТОЙЧИВОСТИ РИСА К ПИРИКУЛЯРИОЗУ *Pi-b* НА РОССИЙСКОМ ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

© 2025 г. М. В. Илюшко, кандидат биологических наук, С. С. Гученко

Федеральный научный центр агробиотехнологий Дальнего Востока им. А. К. Чайки,
692539, Приморский край, пос. Тимирязевский, ул. Воложенина, 30
E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

Исследование проводили с целью получения удвоенных гаплоидов с геном *Pi-b* для селекции риса. В результате гибридизации между дальневосточными сортами и образцом Оху 2х (носитель гена *Pi-b*) создано 13 гибридов F_1 в шести гибридных комбинациях: Садко×Оху 2х, Луговой×Оху 2х, Дарий 23×Оху 2х, Алмаз×Оху 2х, удвоенный гаплоид (Дон 4237×Долинный)×Оху 2х, Ханкайский 429×Оху 2х. Для перевода в постоянное гомозиготное состояние исходных растений доноров F_2 применяли технологию андрогенеза *in vitro*. Предварительно отобраны 35 гибридных растений, несущих аллель устойчивости гена *Pi-b*. В культуру *in vitro* ввели 10246 пыльников риса. Каллусообразование наблюдали у 25 из 35 гибридов F_2 . Самое высокое каллусообразование отмечали у гибридных растений Луговой×Оху 2х – 9,33 % и Ханкайский 429×Оху 2х – 27,50 %, в среднем по всей выборке оно было низким – 2,45 %, что нехарактерно для дальневосточных генотипов. Регенерацию наблюдали на каллусах 7 гибридов риса 4 гибридных комбинаций: Дарий 23×Оху 2х, Садко×Оху 2х, Ханкайский 429×Оху 2х и Луговой×Оху 2х. По результатам ПЦР-анализа из 63 удвоенных гаплоидов отобрано 33 растения с аллелем устойчивости гена *Pi-b*. На вегетационной площадке посеяли 44 линии удвоенных гаплоидов, из которых 3 не взошли. Коллекционный образец Оху 2х, обладающий прочным креплением зерновки на оси метелки, вступая во взаимодействие с локусами других сортов, ответственных за этот признак, дает осыпавшийся в разной степени фенотип в гомозиготном состоянии у удвоенных гаплоидов: 11 линий со средней степенью осыпаваемости и 30 сильноосыпавшихся линий. В целом общий выход исходного селекционного материала для последующих отборов в полевых условиях весьма ограничен и бесперспективен из-за осыпаваемости зерновки.

CREATION OF *ORYZA SATIVA* L. DOUBLED HAPLOYDS WITH THE *Pi-b* GENE OF RICE BLAST RESISTANCE IN THE RUSSIAN FAR EAST

M. V. Ilyushko, S. S. Guchenko

Chaika Federal Scientific Center for Agrobiotechnology of the Far East,
692539, Primorsky krai, pos. Timiryazevskiy, ul. Volozhenina, 30
E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

The study was conducted with the aim of obtaining doubled haploids with the *Pi-b* gene for rice *Oryza sativa* L. breeding. As a result of hybridization between Far Eastern varieties and the Oxy 2x sample (carrier of the *Pi-b* gene), 13 F_1 hybrids of six hybrid combinations were created: Sadko×Oxy 2x, Lugovoy×Oxy 2x, Darius 23×Oxy 2x, Almaz×Oxy 2x, doubled haploid (Don 4237×Dolinsky)×Oxy 2x, Khankaisky 429×Oxy 2x. *In vitro* androgenesis technology was used to transfer the original F_2 donor plants to a constant homozygous state. 35 hybrid plants carrying the resistance allele of the *Pi-b* gene were preliminarily selected. 10246 rice anthers were introduced into the *in vitro* culture. Callus formation was observed in 25 of 35 F_2 hybrids. The highest callus formation values were noted in the hybrid plants Lugovoy×Oxy 2x – 9.33 % and Khankaisky 429×Oxy 2x – 27.50 %, and on average for the entire sample it was low – 2.45 %, which is not typical for Far Eastern genotypes. Regeneration was observed on calli of seven rice hybrids of four hybrid combinations: Darius 23×Oxy 2x, Sadko×Oxy 2x, Khankaisky 429×Oxy 2x and Lugovoy×Oxy 2x. Based on the results of PCR analysis, 33 plants with the resistance allele of the *Pi-b* gene were selected from 63 rice doubled haploids. 44 lines of doubled haploids were sown on the vegetation plot, three of which did not sprout. The collection sample Oxy 2x, being itself with a strong attachment of the grain to the panicle axis, interacting with the loci of other varieties responsible for the strength of the grain attachment, produces a phenotypes that fall of to varying degrees in the homozygous state in doubled haploids: 11 lines with an average degree of shedding, 30 lines with strong shedding. Thus, the total yield of the initial breeding material for subsequent selections in field conditions is very limited and unpromising due to the falling of the grain.

Ключевые слова: *Oryza sativa* L., Оху 2х, андрогенез *in vitro*, пирикуляриоз, *Pi-b*, удвоенные гаплоиды.

Keywords: *Oryza sativa* L., Oxy 2x, androgenesis *in vitro*, *Pyricularia oryzae* Cav., *Pi-b*, doubled haploids.

Дальневосточная зона рисосеяния характеризуется значительной фитопатологической напряженностью вследствие влажного муссонного климата, способствующего распространению возбудителей заболеваний *Oryza sativa* L. [1]. *Pyricularia oryzae* Cav. относят к числу наиболее вредоносных патогенов риса во всем мире [2, 3]. На Дальнем Востоке России отмечают обширный расовый состав пирикулярии [1, 4]. Этому способствовала исторически сложившаяся ситуация: первые сорта риса на территорию Приморского края завезли из Кореи и Японии, на них впервые болезнь была выявлена в 1926 г. Позднее она распространилась и на другие

сорта. Закрепившиеся расы патогена на современном этапе рисосеяния стали пополняться из несортных китайских посевов культуры [5], нарушая сложившийся на территории региона состав *P. oryzae*.

Последние сорта риса дальневосточной селекции, внесенные в государственный реестр селекционных достижений, обладают средней и высокой степенью устойчивости к пирикуляриозу. В их генотипе идентифицированы гены *Pi-ta2* и *Pi-z*, ответственные за резистентность к пирикуляриозу, в моногенном состоянии [6]. На сегодняшний день в регионе наблюдают снижение устойчивости сортов *O. sativa* к патогену. Селекция риса

не успевает за постоянно расширяющимся расовым составом *P. oryzae* [1]. Таким образом, необходимы новые высокоустойчивые к пирикулярриозу сорта культуры.

В мире известно более ста генов устойчивости к *P. oryzae* [3, 7, 8]. К наиболее эффективным генам для дальневосточной зоны рисосеяния относят *Pi-b* [9]. Он также актуален для селекции в сопредельных провинциях Китая [10, 11], откуда поступают семена для несортовых посевов культуры. Кроме того, пирамидирование генов устойчивости с участием *Pi-b* позволяет создавать иммунные селекционные линии и сорта в разных странах [12, 13, 14]. Интрогрессия *Pi-b* в дальневосточные сорта может повысить устойчивость риса и способствовать ее длительному сохранению.

На Дальнем Востоке России *O. sativa* культивируют в пределах ареала с минимально допустимой суммой эффективных температур. Для выращивания риса на этой территории необходимы скороспелые сорта с периодом вегетации до 110 дней. Однако большинство образцов, используемых в качестве доноров различных генов устойчивости, позднеспелые [12, 14, 15]. Это затрудняет как гибридизацию, так и отбор форм для селекции. Все растения коллекционного образца Оху 2х (США) несут аллель устойчивости гена *Pi-b* [16]. Кроме того, он полиморфен по гену *Pi-ta*. По результатам 6 лет изучения этот образец слабо поражают дальневосточные расы пирикуляррии [9]. На Дальнем Востоке при использовании рассадной технологии выращивания растений в защищенном грунте с последующей пересадкой в условия вегетационной площадки он созревает за 120...125 дней, а также уступает районированным сортам по продуктивности растения (1,0 г) и массе 1000 зерен (21,3 г). Оху 2х представляется перспективным для использования в селекции на устойчивость к пирикулярриозу.

Андрогенез *in vitro* широко применяют в селекции *O. sativa* с шестидесятых годов прошлого столетия. Это позволяет в течение одного поколения перевести гетерозиготные гибридные растения в гомозиготные удвоенные гаплоиды (ДН), что упрощает отбор по фенотипу лучших растений без риска расщепления в последующих поколениях [17, 18, 19]. Маркер-ориентированная селекция растений (MAS) способствовала усилению работ в андрогенезе *in vitro*, так как отбор удвоенных гаплоидов проводят по целевым генам интереса с использованием молекулярных маркеров [17, 20, 21].

Цель исследования – создать удвоенные гаплоиды риса *O. sativa* с геном *Pi-b* из гибридов с участием образца Оху 2х.

Методика. В результате гибридизации между дальневосточными сортами и образцом Оху 2х создано 13 гибридов шести гибридных комбинаций: четыре растения Садко×Оху 2х – С×О(1), С×О(2), С×О(3), С×О(4); шесть растений Луговой×Оху 2х – Л×О(1), Л×О(2), Л×О(3), Л×О(4), Л×О(5), Л×О(6); по одному растению комбинаций Дарий 23×Оху 2х – Д23×О; Алмаз×Оху 2х – А×О; удвоенный гаплоид (Дон 4237×Долинный)×Оху 2х – ДН×О; Ханкайский 429×Оху 2х – Х429×О. Андрогенетические ответы *in vitro* гибридов F_1 отсутствовали [9], поэтому была предпринята попытка получить удвоенные гаплоиды из гибридов F_2 .

Для проведения исследований по 3...5 семян каждого гибрида F_1 в 2023 г. выращивали в климатической камере при температуре 21 °С, влажности – 60 %, режиме освещения – до 15000 лкс, продолжительности дня – 16 ч. В фазе 3...4 листьев гибридных растений была проведена идентификация генов устойчивости *Pi-b* и *Pi-ta* методом ПЦР анализа. ДНК выделяли из свежих листьев методом высаливания [22], ПЦР анализ и визуализацию

результатов осуществляли по действующей методике [12].

Для культивирования *in vitro* отбирали гибриды с аллелем устойчивости *Pi-b* (гетерозиготы и гомозиготы). Кроме того, в десяти растениях трех гибридных комбинаций (С×О, Л×О и ДН×О) было подтверждено наличие аллелей устойчивости гена *Pi-ta* (гетерозиготы и гомозиготы). Каждому растению присвоен двузначный номер (табл. 1). Всего для инокуляции пыльников *in vitro* отобрали 35 гибридных растений F_2 . Их пыльники, каллусы и регенеранты культивировали по методике, опубликованной ранее [16]. Все полученные растения-регенеранты разделили по морфологическим признакам на четыре группы: гаплоиды – Н (стерильные растения с очень мелкими цветками); удвоенные гаплоиды – ДН (растения с семенами); растения без семян – Ае (сформировали цветки нормального или большего размера, но не образовывали семена на двух и более метелках); растения, погибшие на ранних этапах роста и развития – д. Под линией понимали все растения, полученные с каллусов одного пыльника.

Удвоенные гаплоиды ДН, созревшие в культуральной комнате, в количестве 44 линий высевали в 2024 г. на вегетационной площадке в пластиковые сосуды объемом 460 л (199×78×39 см), наполненные почвой. Использовали почву, характерную для рисовых полей, – лугово-бурую тяжелого механического состава с содержанием органического вещества 2,7 % (ГОСТ 26213-92), подвижных форм фосфора и калия – соответственно 35,0 мг/кг и 116,0 мг/кг почвы (ГОСТ Р 54650-2011), легкогидролизуемого азота – 60,0 мг/кг (ГОСТ 26483-85), рН солевой вытяжки – 6,0.

Посев проводили с междурядьями 15 см в типичные для региона сроки – 28 мая, режим орошения – укороченное затопление. Температура воздуха вегетационного периода соответствовала биологическим требованиям культуры, превышая среднегодовую показатели на 0,2...1,8 °С. Отклонения по сумме осадков от нормы в мае–июне составляло +31,7...62,9 мм, в августе–сентябре – 14,6...54,3 мм.

Математическую обработку данных (среднее значение признака – М, стандартное отклонение – SD, коэффициент корреляции – r, вычленение максимального значения – max) проводили в программе Statistica V 10.

Результаты и обсуждение. В культуру *in vitro* ввели 10246 пыльников риса, от 96 до 640 шт. на гибридное растение (см. табл. 1). Каллусообразование наблюдали у 25 из 35 гибридов. Каллус сформировался на пыльниках всех гибридных комбинаций. Наибольшее каллусообразование отмечали на гибридных растениях F_2 Л×О(3) 13–2 – 9,33 % и Х429×О 3–3 – 27,50 %. Тем не менее, в среднем по всем растениям всех комбинаций оно было низким – 2,45 %, что нехарактерно для дальневосточных генотипов. Обычно величина этого показателя превышает 5...10 %, достигая для отдельных генотипов 55 % [23]. При проведении первоначальной работы на гибридах F_1 . Среднее каллусообразование не превышало 1 %, а максимальные величины наблюдали также на растениях Л×О(3) – 3,08 % и Х429×О – 3,36 % [9].

Регенерацию наблюдали на каллусах семи гибридов риса F_2 четырех гибридных комбинаций: Д23×О, С×О, Х429×О и Л×О (см. табл. 1). При этом на гибридах F_1 она полностью отсутствовала [9]. Для культуры пыльников *in vitro* чаще используют гибриды F_1 , так как это позволяет фиксировать продукты рекомбинации родительских геномов на самом раннем этапе. Однако андрогенетические ответы *in vitro* выше у гибридов F_2 [17]. В нашем эксперименте регенерацию удалось

Табл. 1. Андрогагенетические ответы *in vitro* гибридов F₂ *Oryza sativa* L., полученных с участием образца Оху 2х

Гибридная комбинация, номер растения	Число пыльников, шт.	Каллусообразование, %	Число регенерантов, шт.			Число регенерантов разных групп, шт.*			
			общее	на пыльник	на каллус	Н	ДН	Ае	d
Д23×О 2-1	418	0,24	0	—	—	—	—	—	—
Д23×О 2-2	96	0	—	—	—	—	—	—	—
Д23×О 2-3	414	5,56	59	0,14	2,57	16	1	30	12
С×О(1) 10-1	166	0	—	—	—	—	—	—	—
С×О(1) 10-2	640	2,81	75	0,12	4,17	25	17	6	27
С×О(1) 10-3	266	1,50	0	—	—	—	—	—	—
С×О(2) 1-1	616	0	—	—	—	—	—	—	—
С×О(2) 1-3	178	3,93	0	—	—	—	—	—	—
С×О(3) 4-1	320	0	—	—	—	—	—	—	—
С×О(3) 4-2	346	2,60	23	0,07	2,56	18	3	2	0
С×О(3) 4-3	414	4,11	0	—	—	—	—	—	—
С×О(4) 7-3	314	0	—	—	—	—	—	—	—
А×О 8-1	312	2,24	0	—	—	—	—	—	—
А×О 8-2	340	0,88	0	—	—	—	—	—	—
ДН×О 5-1	126	0	—	—	—	—	—	—	—
ДН×О 5-2	254	1,58	0	—	—	—	—	—	—
ДН×О 5-3	202	1,49	0	—	—	—	—	—	—
Х429×О 3-1	280	2,86	0	—	—	—	—	—	—
Х429×О 3-3	160	27,5	168	1,05	3,82	114	31	0	23
Л×О(1) 9-2	158	0,63	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(1) 9-3	240	3,33	45	0,19	5,63	36	5	0	4
Л×О(2) 6-1	286	0,35	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(2) 6-2	190	0	—	—	—	—	—	—	—
Л×О(3) 13-1	200	3,50	79	0,40	11,29	72	6	0	1
Л×О(3) 13-2	150	9,33	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(3) 13-3	138	0	—	—	—	—	—	—	—
Л×О(4) 14-1	514	0,20	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(4) 14-2	524	1,72	5	0,95	0,56	2	0	0	3
Л×О(4) 14-3	148	3,38	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(5) 11-1	488	0,82	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(5) 11-2	206	2,91	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(5) 11-3	294	1,36	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(6) 12-1	320	0,94	0	—	—	—	—	—	—
Л×О(6) 12-2	250	0	—	—	—	—	—	—	—
Л×О(6) 12-3	278	0	—	—	—	—	—	—	—
Сумма	10246	—	—	—	—	283	63	38	70
Максимальное значение	640	27,50	168	1,05	11,29	114	31	30	27
Среднее значение	292,74	2,45	12,97	0,08	0,87	8,09	1,80	1,09	2,00
Стандартное отклонение	139,02	4,80	34,41	0,24	2,29	23,26	5,96	5,14	6,16

*Н – гаплоиды, ДН – удвоенные гаплоиды, Ае – растения без семян (сформировали цветки нормального или большего размера, но не образовывали семена на двух и более метелках), d – растения, погибшие на ранних этапах роста и развития.

получить только на F₂ – всего 454 регенеранта. По морфологическим признакам из них 62,3 % были гаплоидами и только 13,9 % удвоенными гаплоидами. Таким образом, выход удвоенных гаплоидов на пыльник был равен 0,006, на каллус – 0,30. В других экспериментах на дальневосточных гибридах величины этих показателей могли достигать 0,06 и 3,67 соответственно [23]. Основным ограничивающим фактором остается интенсивность каллусообразования. Высокая каллусирующая способность пыльников *O. sativa* необходима не просто для увеличения доли удвоенных гаплоидов, но и для повышения их генетического разнообразия. При высоком полиморфизме ДН возрастает вероятность отбора селекционно значимых образцов [16].

Интенсивность каллусообразования не считают абсолютным предиктором регенерационной способности риса, то есть во многих случаях каллус остается неморфогенным. Например, гибридное растение Л×О(3) 13–2 было вторым из всей выборки по величине каллусообразования (9,33 %), но регенерация отсутствовала. И все-таки вероятность морфогенеза у гибридов риса возрастает по мере повышения интенсивности каллусообразования: корреляционная зависимость между величиной показателя каллусообразования и числом регенерантов составляла $r=0,80$ ($n=25$ гибридных растений, образовавших каллус, $p=0,05$).

Андрогагенетические ответы *in vitro* вида *O. sativa* в значительной степени зависят от генотипа растений доноров [18, 19, 24]. Это один из лидирующих

факторов, ограничивающих успех культивирования пыльников *in vitro*, при создании удвоенных гаплоидов для селекционных целей. Проявляется он на разных этапах культивирования – отсутствие каллусообразования, морфогенеза, гибель регенерантов (альбинизм и/или нежизнеспособность зеленых растений), низкое спонтанное удвоение хромосом. Слабые андрогагенетические ответы *in vitro* связаны с высокой стерильностью колосков гибридных растений доноров [9]. Причинами стерильности гибридов *O. sativa* считают определенные комбинации аллелей генов широкой совместимости и такие генетические события, как вставки, делеции, замены нуклеотидов [25]. Эти же факторы могут служить ограничителями в культуре пыльников *in vitro*. Известны попытки усовершенствования методики удвоения хромосом гаплоидов *ex vitro* путем использования анти-тубулиновых химических препаратов для увеличения числа удвоенных гаплоидов [26]. Однако они не привели к существенному увеличению числа ДН. Видимо, дело не в протоколах испытаний, а в генотипической предрасположенности к нормальному прохождению этапов формирования микроспор, что в конечном счете сказывается на завязываемости зерновок гибридных растений, андрогагенетических ответах *in vitro* и интенсивности спонтанного удвоения хромосом.

По результатам ПЦР анализа в нашем исследовании 33 из 63 удвоенных гаплоидов риса обладали аллелем устойчивости гена *Pi-b*, но ни в одном из них аллеля устойчивости *Pi-ta* не обнаружено.

Табл. 2. Осыпаемость удвоенных гаплоидов *Oryza sativa* L., полученных из гибридов F₂ с участием образца Оху 2х

Гибрид	Каллусная линия	Число удвоенных гаплоидов	Фенотип
Д23×О 2-3	6.2.1	1	сильно осыпающиеся
Х429×О 3-3	102.1.1	1	сильно осыпающиеся
	220.2.1	13	сильно осыпающиеся
С×О(1) 10-2	76.1.1	9	сильно осыпающиеся
	219.1.1	5	3 не взошли,
			2 сильно осыпающиеся
С×О(3) 4-2	108.2.1	1	сильно осыпающиеся
	141.1.1	3	сильно осыпающиеся
Л×О(1) 9-3	94.1.1	5	среднеосыпающиеся
Л×О(3) 13-1	116.1.1	6	среднеосыпающиеся

Удвоенные гаплоиды, выращенные на вегетационной площадке, оказались непригодными для селекционных отборов: часть из них не взошла, остальные оказались в сильной или средней степени осыпающимися (табл. 2). В прежние годы мы предпринимали попытки интрогрессии гена *Pi-b* в дальневосточные сорта риса. Во всех случаях отмечали отсутствие каллусообразования в культуре пыльников *in vitro* или его низкое значение. Исключение составил один из трех гибридов F₂ Рассвет×Оху 2х, было получено 390 осыпающихся удвоенных гаплоидов риса. Семена 13 растений гибрида F₂ Рассвет×Оху 2х оказались сильно осыпающимися, 16 растений – осыпающимися в средней степени [16].

Среди селекционеров долгое время бытовало мнение, что вести селекцию по признаку осыпаемости риса легко. Считали, что его контролирует один ген *Th*: доминантный аллель отвечает за осыпаемость, рецессивный – за трудное обмолачивание [27]. Однако тот факт, что методы объективной оценки сортовой разноточности осыпаемости *O. sativa* [27] до сих пор не разработаны, свидетельствует о множестве переходных форм, то есть об отсутствии дискретности признака. В исследованиях последних лет показано, что за прочность крепления зерновки риса подвидом *japonica* отвечает ряд локусов количественных признаков (*qSH1*, *qSH3*, *sh4*, *qCSS3*, *qCSS9*) [28, 29], в первую очередь *qSH1* и *sh4*. Одноточечная замена в локусе *qSH1* и рецессивное состояние локуса *sh4* обеспечивают отсутствие осыпаемости. Различные комбинации других локусов регулируют этот признак в сторону осыпаемости. Все это свидетельствует о сложной природе наследуемости признака. Сам коллекционный образец Оху 2х характеризуется прочным креплением зерновки на оси метелки, однако, вступая во взаимодействие с локусами других сортов, ответственных за этот признак, дает осыпающийся в разной степени фенотип в гомозиготном состоянии у ДН. Таким образом, образец *O. sativa* Оху 2х представляет слабый интерес для селекционной работы в дальневосточных условиях. Возможно, беккроссирование или использование сложных гибридов будет способствовать улучшению признака прочности крепления зерновки с одновременной передачей аллеля устойчивости гена *Pi-b*. Кроме того, встречаются коллекционные образцы и линии удвоенных гаплоидов с трудновымолачиваемой зерновкой. Скрещивание с таким рисом может дать оптимальное проявление прочности крепления зерновки.

Кроме того, Оху 2х перспективен для изучения природы признака осыпаемости, его генетической основы. Современные исследования в качестве осыпающихся материнских форм предусматривают привлечение природных видов риса, например, *Oryza rufipogon* Griff или *Oryza nivara* Sharma et Shastri, сорта *O. sativa* subsp. *indica* Kato. Рис подвита *indica* более склонен к осыпанию, чем *O. sativa* subsp. *japonica* Kato [28, 29]. Оху 2х фенотипически относится к подвиду риса *japonica*.

Его использование в качестве материнской формы в целевых скрещиваниях по выявлению особенностей наследуемости прочности крепления зерновки поможет расширить представление о локусах, ответственных за признак осыпаемости у вида *O. sativa*. Возможно геномное редактирование участков ДНК для снижения осыпаемости, что, в конечном счете, позволяет повысить урожайность риса [29].

Выводы. Использование в андрогенезе *in vitro* в качестве растений доноров гибридов F₂ между дальневосточными сортами *O. sativa* и коллекционным образцом Оху 2х позволяет получить весьма ограниченное количество удвоенных гаплоидов из-за низкого каллусообразования и регенерации: из 10246 пыльников образовалось 63 удвоенных гаплоида; только в 33 подтверждено наличие аллеля устойчивости гена *Pi-b*. Полученные удвоенные гаплоиды характеризуются средней и сильной степенью осыпаемости зерновки. Таким образом, общий выход исходного селекционного материала для последующих отборов в полевых условиях весьма ограничен и бесперспективен из-за осыпаемости зерновки.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ.

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме «Получить высокопродуктивные гибриды и сорта сельскохозяйственных культур устойчивые в био- и абиострессорам Дальневосточного региона», рег. № НИОКТР 125020701697-8.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ.

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы работы заявляют отсутствие конфликта интересов.

Литература.

1. Ковалевская В. А., Лелявская В. Н., Ковалева А. А. Устойчивость риса к пирикулярриозу в Приморском крае // Защита и карантин растений. 2013. № 5. С. 24–26.
2. Molecular breeding strategy and challenges towards improvement of blast disease resistance in rice crop / S. Ashkani, M. Y. Rafii, M. Shabanmofrad, et al. // Frontiers in Plant Science. 2015. Vol. 5. Article 886. URL: <https://www.frontiersin.org/journals/plant-science/articles/10.3389/fpls.2015.00886/full> (дата обращения: 18.12.2021). doi: 10.3389/fpls.2015.00886.
3. Current status of conventional and molecular interventions for blast resistance in rice / D. Srivastava, M. Shamim, M. Kumar, et al. // Rice Science. 2017. Vol. 24. No. 6. P. 299–321. doi: 10.1016/j.rsci.2017.08.001.
4. Ecology of rice viruses in the south of the Russian Far East / Y. G. Volkov, N. N. Kakareka, V. F. Tolkach, et al. // Rice Research. 2024. Vol. 12. Article 409. URL: <https://www.omicsonline.org/open-access/ecology-of-rice-viruses-in-the-south-of-the-russian-far-east.pdf> (дата обращения: 19.02.2025). doi: 10.4172/2375-4338.1000409.
5. Клименкова Т. Г., Михайлик Т. А., Лелявская В. Н. Оценка сортообразцов и сортов риса на устойчивость к пирикулярриозу // Дальневосточный аграрный вестник. 2018. № 4(48). С. 67–74. doi: 10.24411/1999-6837-2018-14082.
6. Устойчивость образцов конкурсного сортоиспытания и сортов риса *Oryza sativa* L. дальневосточной селекции к пирикулярриозу / М. В. Илюшко, С. С. Гученко, В. Н. Лелявская, и др. // Российская сельскохозяй-

7. Comprehensive evaluation of resistance effects of pyramiding lines with different broad-spectrum resistance genes against *Magnaporthe oryzae* in rice (*Oryza sativa* L.) / Y. Wu, N. Xiao, Y. Chen, et al. // *Rice*. 2019. Vol. 12. Article 11. URL: <https://thericejournal.springeropen.com/articles/10.1186/s12284-019-0264-3> (дата обращения: 15.04.2020). doi: 10.1186/s12284-019-0264-3.
8. Molecular screening of blast resistance genes in rice germplasms resistant to *Magnaporthe oryzae* / Y. Loang, B. Yan, Y. Peng, et al. // *Rice Science*. 2017. Vol. 24. No. 1. P. 41–47. doi: 10.1016/j.rsci.2016.07.004.
9. Влияние фертильности пыльцы гибридных растений доноров на андрогенез *in vitro* риса *Oryza sativa* L. / М. В. Илюшко, С. С. Гученко, В. Н. Лелявская и др. // *Рисоводство*. 2023. № 2(59). С. 6–12. doi: 10.33775/1684-2464-2023-59-2-6-12.
10. Comparison of pathogenicity of *Pyricularia oryzae* under different genetic backgrounds / J. Ma, G. Zhang, A. Xin, et al. // *Acta Agronomica Sinica*. 2015. Vol. 41. No. 12. P. 1791–1801. doi: 10.3724/SP.J.1006.2015.01791.
11. Distribution research of blast resistance genes Pita, Pib, Pi9 and Pikm in blast-resistance rice resources / X. Dai, Y. Yan, L. Zhou, et al. // *Life Science Research*. 2012. Vol. 16. No. 4. P. 340–356. doi: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2012.04.009.
12. Идентификация генов устойчивости к пирикулярриозу риса Pi-1, Pi-2, Pi-33, Pi-40, Pi-ta, Pi-b / О. В. Шумская, Н. Н. Вожжова, О. С. Жогалева, и др. // *Зерновое хозяйство России*. 2023. Т. 15. № 5. С. 30–38. doi: 10.31367/2079-8725-2023-88-5-30-38.
13. Identification of rice blast resistance genes using international monogenic differentials / J. C. Wang, Y. Jia, J. W. Wen, et al. // *Crop Protection*. 2013. Vol. 45. P. 109–116. doi: 10.1016/j.cropro.2012.11.020.
14. Blast resistance R genes pyramiding in temperate japonica rice / G. Orasen, R. Greco, E. Puja, et al. // *Euphytica*. 2020. Vol. 214. Article 40. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10681-020-2575-2> (дата обращения: 22.01.2021). doi: 10.1007/s10681-020-2575-2.
15. Genetic improvement for blast resistance in high-yielding cold-tolerant rice (*Oryza sativa* L.) cultivar Himalaya 741 by marker-assisted backcross breeding / R. Rathour, R. Kumar, K. Thakur, et al. // *3 Biotech*. 2022. Vol. 12. Article 165. URL: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-022-03244-w> (дата обращения: 25.05.2023). doi: 10.1007/s13205-022-03244-w.
16. Илюшко М. В., Ромашова М. В., Гученко С. С. Оценка частоты внутрикалусной изменчивости андрогенных удвоенных гаплоидов риса (*Oryza sativa* L.) по генам устойчивости к пирикулярриозу // *Сельскохозяйственная биология*. 2023. Т. 58. № 3. С. 554–566. doi: 10.15389/agrobiol.2023.3.554rus.
17. Sarao N. K., Gosal S. S. *In vitro* androgenesis accelerated breeding in rice // *Biotechnology of crop improvement*. Switzerland: Springer, Cham. Springer International Publishing AG, 2018. Vol. 1. P. 407–435. doi: 10.1007/978-3-319-78283-6.
18. Strategies and prospects of haploid induction in rice (*Oryza sativa*) / M. Kyum, H. Kaur, A. Kamboj, et al. // *Plant Breeding*. 2021. Vol. 141(2). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbr.12971> (дата обращения: 11.12.2021). doi: 10.1111/pbr.12971.
19. Exploring factors affecting anther culture in rice (*Oryza sativa* L.) / S. K. Tripathy, D. Swain, P. M. Mohapatra, et al. // *Journal of Applied Biology and Biotechnology*. 2019. Vol. 7 (02). P. 87–92. doi: 10.7324/JABB.2019.70216.
20. Creation of rice doubled haploids resistant to prolonged flooding using anther culture / P. Kostylev, N. Kalinina, N. Vozhzhova, et al. // *Plants*. 2023. Vol. 3681. Article 3681. URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/21/3681> (дата обращения: 13.10.2024). doi: 10.3390/plants12213681.
21. Получение дигаметоидных линий для селекции глютинозного риса / И. А. Сартбаева, Б. Н. Усенбеков, А. Б. Рысбекова и др. // *Биотехнология*. 2018. Т. 34. № 2. С. 26–36. doi: 10.21519/0234-2758-2018-34-2-26-36.
22. Aljanabi S. M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques // *Nucleic Acid Research*. 1997. Vol. 25. No. 22. P. 4692–4693. doi: 10.1093/nar/25.22.4692.
23. Ilyushko M. V. Effect of growing conditions of rice donor plants on anther culture *in vitro* // *Journal of Agricultural Science and Technology A*. 2015. Vol. 5. P. 686–694. doi: 10.17265/2161-6256/2015.08.007.
24. Improvement of anther culture to integrate doubled haploid technology in temperate rice (*Oryza sativa* L.) breeding / C. Lantos, M. Jancso, A. Szekely, et al. // *Plants*. 2022. Vol. 11. Article 3446. URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/11/24/3446> (дата обращения: 02.02.2023). doi: 10.3390/plants11243446.
25. Харитонов Е. М., Гончарова Ю. К. Стерильность при межподвидовой гибридизации риса *Oryza sativa* L. в связи с поиском генов широкой совместимости и отнесением образцов к подвидам *indica* и *japonica* // *Сельскохозяйственная биология*. 2013. № 5. С. 61–68. doi: 10.15389/agrobiol.2013.5.61rus.
26. D'Hooghvorst I., Ferreres I., Nogues S. Anther culture and chromosome doubling in Mediterranean japonica rice // Jose M. Segui-Simarro (ed.). *Doubled haploid technology. Volume 1: General topics, Alliaceae, Cereals, Methods in molecular biology*, 2287. Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature. 2021. P. 333–341. doi: 10.1007/978-1-0716-1315-3_19.
27. Ляховкин А. Г. Рис. Мировое производство и генофонд. СПб: Профи-Информ, 2005. 288 с.
28. Detection of a novel locus involved in non-seed-shattering behavior of Japonica rice cultivar, *Oryza sativa* «Nipponbare» / Y. Tsujimura, S. Sugiyama, K. Otsuka, et al. // *Theoretical and Applied Genetics*. 2019. Vol. 132. P. 2615–2623. doi: 10.1007/s00122-019-03376-3.
29. Wu H., He Q., Wang Q. Advances in rice seed shattering // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24. Article 8889. URL: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/10/8889> (дата обращения: 02.02.2025). doi: 10.3390/ijms24108889.

Поступила в редакцию 03.03.2025
После доработки 28.03.2025
Принята к публикации 15.04.2025