

ОБЪЕДИНЕНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ РИСА К ПИРИКУЛЯРИОЗУ В ГЕНОТИПАХ РОССИЙСКИХ СОРТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАРКЕРНОЙ СЕЛЕКЦИИ

© П.И. Костылев¹, Е.В. Краснова¹, А.А. Редькин¹, Е.В. Дубина², Ж.М. Мухина²

¹ФГБНУ «Аграрный научный центр „Донской“», Ростовская область, Зерноград;

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт риса», Краснодар

Для цитирования: Костылев П.И., Краснова Е.В., Редькин А.А., и др. Объединение генов устойчивости риса к пирикулярриозу в генотипах российских сортов с использованием маркерной селекции // Экологическая генетика. – 2017. – Т. 15. – № 3. – С. 54–63. doi: 10.17816/ecogen15354-63.

Поступила в редакцию: 02.03.2017

Принята к печати: 09.08.2017

✿ Урожайность риса снижается при заболевании пирикулярриозом, поэтому создание устойчивых высокоурожайных сортов очень актуально. Существенно оптимизирует селекционный процесс применение молекулярных ДНК-маркеров, сцепленных с локусами резистентности. Цель исследований — получение линий риса с 2–6 генами резистентности к пирикулярриозу: *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi-40* с помощью метода молекулярного маркирования. Донорами были иностранные сорта, реципиентами — российские. В исследованиях применяли микросателлитные маркеры и ПЦР-анализ. На первом этапе исследований в результате гибридизации получены линии с генами *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*. На втором этапе созданы гибриды, обладающие всеми тремя генами. На третьем этапе перенесены гены *Pi-b* и *Pi-ta*, на четвертом — *Pi-40*. В результате внутривидовой гибридизации получены и отобраны растения с шестью генами устойчивости к пирикулярриозу.

✿ **Ключевые слова:** рис; донор; гибрид; пирикулярриоз; резистентность; селекция; ПЦР-анализ; SSR-маркер.

COMBINATION OF RICE BLAST RESISTANCE GENES IN THE GENOTYPES OF RUSSIAN RICE VARIETIES WITH THE USE OF MARKER ASSISTED SELECTION

© P.I. Kostylev¹, E.V. Krasnova¹, A.A. Red'kin¹, E.V. Dubina², Zh.M. Mukhina²

¹Agrarian Scientific Center “Donskoy”, Zernograd, Rostov region, Russia;

²All-Russian Research Institute of Rice, Krasnodar, Russia

For citation: Kostylev PI, Krasnova EV, Red'kin AA, et al. Combination of rice blast resistance genes in the genotypes of Russian rice varieties with the use of marker assisted selection. *Ecological genetics*. 2017;15(3):54-63. doi: 10.17816/ecogen15354-63.

Received: 02.03.2017

Accepted: 09.08.2017

✿ Grain productivity of rice is significantly reduced by dangerous disease — blast. Therefore, the development of resistant high yielding rice varieties with the Pi group of genes is important. Use of molecular markers linked with the loci of resistance significantly optimizes the breeding process. **The purpose** of the research is to develop rice lines combining 2-6 loci of resistance to blast: *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi-40* by molecular marking. **Materials and Methods.** As donors of resistance genes foreign samples were used, recipient — Russian varieties. In the studies we used micro-satellites markers and PCR analysis. **Results.** In the first stage of the research as a result of hybridization domestic lines with genes *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33* were obtained. At the second stage — hybrids with all 3 genes were developed. In the third stage genes *Pi-b* and *Pi-ta* and on the fourth — *Pi-40* were introduced. **Conclusion.** As a result, rice genotypes, combining 6 loci of blast resistance were developed with use of marker assisted selection.

✿ **Keywords:** rice; donor; blast disease; resistance; hybrid; breeding; marker; PCR analysis.

ВВЕДЕНИЕ

Рис — одна из основных продовольственных культур во всем мире, представляющая собой основной продукт питания для более чем 60 % населения мира. Его выращивают на всех континентах, за исключением Антарктиды. Он имеет огромное экономическое значение, более 23 % от потребляемых населением мира калорий получают из риса. Различные патогены приносят боль-

шие убытки при выращивании культуры. Самой вредоносной болезнью является пирикулярриоз, вызываемый грибом *Pyricularia oryzae* Cav., который представляет собой серьезную угрозу для мировой продовольственной безопасности. Снижение урожая от него в годы эпифитотий достигает иногда 100 % [1]. Это заболевание присутствует почти во всех странах и агроэкологических зонах, где выращивается рис, и вызывает поражение листьев, междоузлий и метелок. Количество

риса, теряющееся от этой болезни ежегодно, таково, что можно обеспечить пищей 60 миллионов человек [2]. Ежегодно в мире применяется для борьбы с пирикулярриозом 20–30 тыс. тонн фунгицидов [2], в том числе 220–380 тонн в России [3]. Проводятся химические обработки против других патогенов, что оказывает неблагоприятное влияние на среду обитания и здоровье человека.

Выращивание сортов, резистентных к болезням, представляет собой перспективный способ защиты риса без применения химикатов. Выведение таких сортов и оперативное внедрение их в сельское хозяйство — самое эффективное действие для устранения этой болезни. Однако создание устойчивых сортов — наиболее сложное направление селекции. *Pyricularia oryzae* Cav. обладает огромным спектром вариабельности, что в комплексе с его большими способностями к размножению обуславливает успешную приспособляемость.

Линии, совмещающие в себе два и более локуса *Pi*, часто демонстрируют существенное повышение уровня устойчивости к этой болезни и имеют большую ценность при создании сортов. В связи с этим в сельскохозяйственном производстве нужно возделывать болезнеустойчивые сорта, совмещающие в одном генотипе несколько генов, каждый из которых вносит свой вклад по этому признаку.

Резистентность к пирикулярриозу обусловлена классической схемой «ген на ген» [4], когда основной аллель устойчивости эффективно действует против штаммов *P. oryzae* Cav., имеющих соответственный ген авирулентности [5]. Белки растений, определяющие устойчивость, кодируются семейством сцепленных генов. Высокая вариабельность продуктов этих генов позволяет препятствовать заражению новыми вирулентными видами и расами патогенов.

В ходе генетических экспериментов было определено более 100 генов, повышающих резистентность к этой болезни — *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta*, *Pi-z* и др. [2, 6].

Обобщая информацию о локализации генов устойчивости риса к пирикулярриозу в геноме, была построена генетическая карта с позициями генов [7]. Расположение генов устойчивости было установлено путем выявления ВАС- или РАС-клонов, содержащих последовательности клонированного гена или фланкирующих маркеров [8].

Во многих источниках отмечается, что гены, влияющие на устойчивость к пирикулярриозу, расположены совместно близко друг к другу на хромосомах 6, 11 и 12 [9, 10]. На 6-й хромосоме не менее 14 генов были выявлены в районе центromеры [7]. Среди них *Pi-2*, *Pi-z-t* и *Pi-9* клонированы и обнаружены в одной и той же части хромосомы. Они встроены в генный кластер, содержащий тандемно повторяющиеся гены *NBS-LRR* [11, 12].

На длинном плече хромосомы 11 картированы по крайней мере девять генов (*Pi-1*, *Pi-7*, *Pi-18*, *Pi-f*, *Pi-34*, *Pi-38*, *Pi-44(t)*, *PBR*, *Pi-lm2*) и шесть аллелей

локуса *Pi-k*. На хромосоме 12 вблизи центromеры были картированы не менее 17 генов устойчивости (*Pi-ta*, *Pi-ta-2*, *Pi-tq6*, *Pi-6(t)*, *Pi-12*, *Pi-12(t)*, *Pi-19(t)*, *Pi-20(t)*, *Pi-21(t)*, *Pi-24(t)*, *Pi-31(t)*, *Pi-32(t)*, *Pi-39(t)*, *Pi-62(t)*, *Pi-157(t)*, *IPi* и *IPi3*) [7]. Анализ протеома линий с разными аллелями *Pi-ta* показал, что белки восприимчивых и устойчивых сортов различаются по одной аминокислоте [9].

Применение ДНК-маркеров, тесно сцепленных с генами резистентности растений риса к *P. oryzae* Cav., значительно облегчает селекционную работу в этом направлении. Способы молекулярного маркирования дают возможность существенно ускорить введение целевых генов в ходе селекции и обеспечить создание современных сортов, интегрирующих комплект нужных признаков [13].

Стратегии улучшения должны рассчитывать не на один ген, а на несколько объединенных генов для долговременной устойчивости, так как гриб имеет сложный набор рас и олигогенная устойчивость зачастую преодолевается возбудителем за очень короткий промежуток времени. Поэтому нужно выращивать устойчивые к пирикулярриозу сорта риса, которые имеют в своем геноме группу генов, вносящих свой вклад в резистентность. Сорта, обладающие комбинацией из 3–5 генов устойчивости, показывают более значительное увеличение и расширение диапазона резистентности к пирикулярриозу, чем единичные гены.

В некоторых странах реализованы успешные селекционные программы по созданию устойчивых к пирикулярриозу сортов риса методом пирамидирования генов с применением маркерной селекции. Например, в Колумбии пирамидирование генов *Pi-1*, *Pi-2* и *Pi-33* в геноме использовали в качестве стратегии селекции, эффективной для создания сортов риса с длительной устойчивостью к пирикулярриозу [14].

В Китае перспективная линия G46B, используемая для получения гибридного риса, но поражаемая пирикулярриозом, была скрещена с тремя сортами риса — Digu, VL-1 и Pi-4, обладающими генами *Pi-d(t)*, *Pi-b* и *Pi-ta2* соответственно [15]. В процессе пирамидирования выделено 15 растений с этими тремя генами резистентности. Эти результаты показывают возможности маркерной селекции в работах по повышению устойчивости риса к болезням [15].

Селекция высокоурожайных сорта риса с надежной устойчивостью к пирикулярриозу является одним из приоритетов в Китае и в странах, где возделывание риса — главное направление в сельском хозяйстве. Эффективность и точность селекции резистентных сортов во многом зависят от создания маркеров, специфических для целевого гена. Для гена *Pi-39* был разработан специфический маркер (InDel), основанный на вставке-делеции [16]. Этот ген был успешно введен в два лучших сорта с использованием генотипического и фенотипи-

ческого отбора. Пять выделенных линий BC_3F_3 показали высокий уровень устойчивости к пирикулярриозу. По крайней мере 97,5 % их генома было унаследовано от их рекуррентных сортов. Агрономические признаки четырех линий (D94, D98, D112 и D113) были так же хороши, как и у рекуррентного родителя [16].

В работе других китайских селекционеров три гена резистентности (*Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*) из донорных образцов риса C101-Lac и C101-A-51 были перенесены в элитный сорт Jin 23B путем гибридизации и беккроссов. Шесть почти изогенных линий Jin 23B с тремя генами резистентности были созданы с помощью сочетания традиционной и маркерной селекции. Резистентность трехгенных линий была выше, чем моногенных. Следовательно, пирамидирование генов устойчивости к пирикулярриозу представляет собой результативный подход для улучшения сортов риса по устойчивости к этой болезни [17].

В Индии гибриды F_1 , F_2 от скрещивания между восприимчивым к пирикулярриозу высокоурожайным сортом риса ADT 43 и резистентной почти изогенной линией (NIL) CT13432-3R, несущей четыре гена устойчивости к пирикулярриозу — *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33* и *Pi-54*, были использованы для изучения взаимодействия генов, контролирующих признаки устойчивости к болезням и урожайности [18]. Взаимодействие генов было комплементарным по числу продуктивных побегов, урожайности, количеству поражений, инфицированной площади листьев, однако для остальных признаков наблюдали эпистаз. Среди генотипов, испытанных в условиях эпифитотий, линии с несколькими генами имели более высокую устойчивость к пирикулярриозу по сравнению с образцами, несущими единичные гены. Это указывает на то, что неаллельные гены имеют комплементарный эффект, когда присутствуют вместе. Информация о генетике различных признаков, способствующих повышению устойчивости, будет в дальнейшем помогать селекционерам растений в выборе подходящей стратегии селекции на устойчивость к пирикулярриозу и повышение урожайности риса [18].

У некоторых сортов подвиды *indica* были обнаружены два гена устойчивости, *Pi-b* и *Pi-ta*, которые были изучены на молекулярном уровне и перенесены в сорта подвиды *japonica* [5, 9, 19]. Они контролируют синтез протеинов, обеспечивающих резистентность к пирикулярриозу [19].

Оба гена *Pi-b* и *Pi-ta* относятся к наиболее распространенному типу генов резистентности NBS-LRR, которые кодируют белки, содержащие нуклеотид-связывающий домен (NBS), а также рецепторный район с более высоким содержанием лейцина (LRR) [19].

Ген резистентности к пирикулярриозу *Pi-b* открыл японский ученый Shinoda (1971) у сортов риса *indica*. В 1978 г. были получены изогенные линии BL-1—BL-7 на сортах *japonica*, получивших от устойчивых образцов фрагмент хромосомы 2 с геном *Pi-b* [20]. В дальнейшем этот ген был клонирован и секвенирован [21]. Ген *Pi-b*

эффективно защищает рис от пирикулярриоза в районах производства риса на юге России [22].

Во Всероссийском НИИ риса (лаборатория биотехнологии) ранее была создана система внутривидовых маркеров гена *Pi-b* [23]. С применением маркеров на основе ПЦР-анализа выведены хорошие селекционные образцы с этим геном на базе генотипов сортов Янтарь и Хазар [24].

Другой доминантный секвенированный ген устойчивости к пирикулярриозу — *Pi-ta* вносит свой вклад в формирование иммунитета риса [9]. Он тоже относится к типу генов устойчивости растений — NBS-LRR [25].

Присутствие в коллекции образцов, имеющих гены *Pi-b* и *Pi-ta*, дало нам возможность провести работу по выведению на их базе сортов риса с пирамидированными генами устойчивости.

Ген *Pi-40*, по данным литературных источников, обладает высокой степенью устойчивости к различным патогенным расам возбудителя пирикулярриоза [26]. Этот ген был перенесен в геном культурного риса *Oryza sativa* L. в результате гибридизации с дикорастущим австралийским видом *O. australiensis* Domin. и последующих беккроссов. Реципиентом послужил сорт подвиды *japonica* из Кореи. Сначала была выведена линия IR65482-4-136-2-2, на основе которой был создан ряд селекционных линий, несущих ген *Pi-40* [27].

Этот ген расположен на коротком плече в шестой хромосоме. Выявлено два микросателлитных локуса (*RM527* и *RM3330*), находящихся с двух сторон от гена *Pi-40* на расстоянии 1,1 и 2,4 сМ [27]. Они являются кодоминантными, что позволяет различить аллельное состояние этого гена, и используются при анализе расщепления в потомстве для определения гибридных растений, несущих доминантный аллель *Pi-40* в гомозиготном состоянии [27].

Для выведения новых сортов риса может быть использован генетический полиморфизм. Достижения в молекулярной генетике риса позволяют применять технологии ДНК-маркирования. Расшифровка генома риса и клонирование генов обеспечивают возможность получения внутривидовых маркеров, ценных для использования в селекции. Данный подход существенно расширяет границы возможностей обычной селекции. При помощи надежных маркеров к генам, контролирующим устойчивость риса к пирикулярриозу или другие хозяйственно значимые признаки, можно существенно уменьшить период создания новых форм растений, ускорить перемещение ценных аллелей в генотипы реципиентов и вывести новые сорта с комплексом ценных признаков [13, 28]. Положительный момент заключается в том, что на молекулярные маркеры не оказывают влияния условия выращивания и их можно определять на любой фазе онтогенеза растений. Таким образом, выведение резистентных высокоурожайных сортов риса с группой генов *Pi* с использованием

ДНК-маркеров, сцепленных с локусами устойчивости, является актуальным.

Цель наших исследований — получение линий риса с 2–6 генами резистентности к пирикулярриозу: *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-ta*, *Pi-b*, *Pi-40* методом молекулярного маркирования.

Практическая значимость состоит в том, что с применением эффективной стратегии маркерной селекции удалось объединить несколько различных генов *Pi* на генетической базе российских сортов и создать устойчивые к изменчивым расам возбудителя пирикулярриоза образцы риса, которые можно выращивать без использования фунгицидов. Впервые в Ростовской области при помощи маркерной селекции были созданы комплексно устойчивые к пирикулярриозу сорта риса Магнат, Пентаген и другие.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Продуктивные скороспелые отечественные сорта подвида *japonica* Вираз и Боярин были взяты в качестве отцовских сортов-реципиентов. Линии подвида *indica* С101-А-51 (*Pi-2*), С101-Лас (*Pi-1* и *Pi-33*) (CIRAD, Франция), Мороберекан (*Pi-b*), IR-58 (*Pi-ta*), IR-83243-2-1-24-4-В (*Pi-40*) (IRRI, Филиппины), взятые в качестве материнских форм, выступали в качестве доноров. В данной работе использовали не оригинальные сорта Мороберекан и IR-58, а полученные ранее скороспелые чистые линии из гибридов Аметист × Мороберекан (Л-10189, ВНИИ риса) и IR-58 × Кубань 3 (Л-10136, ВНИИЗК).

Пирамидирование генов осуществляли с помощью ступенчатой гибридизации. На первом этапе исследований в результате гибридизации получены линии с генами *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*. На втором этапе созданы гибриды, обладающие всеми тремя генами. На третьем этапе перенесены гены *Pi-b* и *Pi-ta*, на четвертом — *Pi-40*. При скрещивании растений удаление пыльников с цветков материнских растений проводили вакуумным способом, а опыление — твел-методом, путем стряхивания пыльцы с отцовских метелок. Гибридные растения выращивали на чеках ФГУП «Пролетарское» Ростовской области. Геномную ДНК выделяли из листьев растений, семена которых были убраны.

Экстракцию ДНК осуществляли методом СТАВ, который заключается в использовании цетилтриметиламмоний бромида (СТАВ) в качестве основного компонента буфера экстракции и преципитации [29].

Для идентификации генов применяли микросателлитные SSR-маркеры. Нуклеотидные последовательности праймеров представлены на сайте www.genenep.org. В течение всех циклов возвратных скрещиваний перенос доминантных аллелей каждого такого гена в потомстве контролировался тесно сцепленными или внутригенными молекулярными маркерами. Для определения

гена *Pi-1* использовали маркеры *RM224*, гена *Pi-2* — *RM527*, гена *Pi-33* — *RM310*, *Pi-40* — *RM527*. Они локализованы в хромосомах: 11, 6, 8, 6 соответственно. Внутригенные маркеры, созданные в лаборатории биотехнологии Всероссийского НИИ риса, применялись для идентификации генов *Pi-b* (*IGM Pi-b*, хромосома 2) и *Pi-ta* (*IGM Pi-ta*, хромосома 12) [28, 29].

ПЦР проводили с 40–50 нг ДНК в конечном объеме 25 мкл. Состав реакционной смеси: 0,05 мМ dNTPs, 0,3 мМ каждого праймера, 25 мМ KCL, 60 мМ Tris-HCL (рН 8,5), 0,1 % Тритон X-100, 10 мМ 2-меркаптоэтанол, 1,5 мМ MgCl₂, 1 единица Taq-полимеразы. Амплификацию осуществляли в ДНК-амплификаторе «Терцик» при следующих условиях: начальная денатурация ДНК при 94 °С 5 минут; следующие 35 циклов: денатурация при 94 °С 30 с; отжиг праймеров при 56 °С 35 с; элонгация при 72 °С; последний цикл синтеза длится 3 минуты при температуре 72 °С.

Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 8 % полиакриламидном геле (напряжение 250 вольт в течение 3 часов). Для визуализации результатов гелевые пластины помещали на 20–30 минут в раствор бромистого этидия (5 мкг/мл) и фотографировали при ультрафиолетовом свете в гель-документирующей системе (Gel Doc 2000, BioRad, США).

Инокуляцию растений проводили культурой гриба, отобранного на чеках Краснодарского края. Оценку устойчивости риса к пирикулярриозу осуществляли по 9-балльной шкале Международного института риса: устойчивые (1 балл) — отсутствие поражения, мелкие коричневые пятнышки в виде точек; среднеустойчивые (2–5 баллов) — типичные пирикулярриозные пятна эллиптической формы, 1–2 мм длиной, покрывающие до 10 % общей поверхности листьев; слабо устойчивые (6–7 баллов) — типичные пятна длиной 3 мм и более, инфицирующие от 11 до 50 % поверхности листьев; неустойчивые (8–9 баллов) — типичные пирикулярриозные пятна 3 мм длиной или более, покрывающие более 75 % площади листьев, многие листья мертвы [30].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программ Excel и Statistica 6.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью ДНК-маркеров было проведено объединение нескольких генов устойчивости к пирикулярриозу на основе генотипов риса, приспособленных к климату юга России.

На первом этапе работы в 2005 г. была проведена гибридизация сортов Боярин и Вираз с тремя донорами генов *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*. После анализа ДНК у растений были отобраны гомозиготные образцы, несущие доминантные аллели устойчивости.

Продолжительность вегетационного периода донорных образцов была на 30–35 дней больше, чем у сорта



Рис. 1. Метелка гибрида F_1 C101-Lac ($Pi-1+33$) \times Боярин

Fig. 1. The panicle of hybrid F_1 C101-Lac ($Pi-1+33$) \times Boyarin

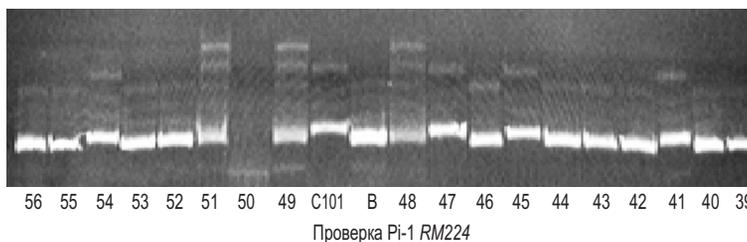


Рис. 2. Результаты разделения методом электрофореза продуктов амплификации ДНК растений F_2 (C101-Lac \times Боярин) с маркером *RM224* к гену устойчивости риса к пирикулярно-риозу $Pi-1$. Примечание: 56–39 — анализируемые растения; В — сорт-реципиент Боярин; линия C101-Lac — донор гена $Pi-1$. При наличии доминантного аллеля гена $Pi-1$ амплифицируется фрагмент размером 158 п. н.

Fig. 2. Results of the separation by electrophoresis of the amplification products of DNA plants F_2 (C101-Lac \times Boyarin) with the *RM224* marker to the rice blast resistance gene $Pi-1$. Note: 39-56 — analyzed plants; В — recipient variety Boyarin; line C101-Lac — donor of gene $Pi-1$

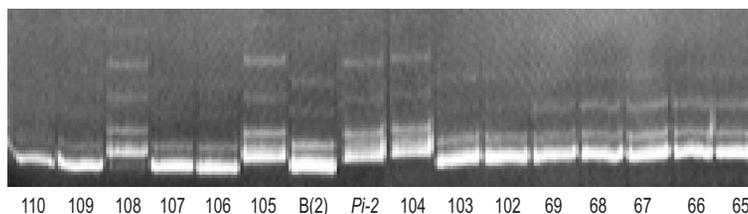


Рис. 3. Результаты разделения методом электрофореза продуктов амплификации ДНК растений F_2 (C101-A-51 \times Боярин) с маркером *RM527* к гену $Pi-2$ устойчивости риса к пирикулярно-риозу. Примечание: 110–65 — анализируемые растения; В — сорт-реципиент Боярин; линия C101-A-51 — донор гена $Pi-2$. При наличии гена $Pi-2$ амплифицируется фрагмент размером 233 п. н.

Fig. 3. Results of the separation by electrophoresis of the amplification products of DNA plants F_2 (C101-A-51 \times Boyarin) with the *RM527* marker to the rice blast resistance gene $Pi-2$. Note: 65-110 — analyzed plants; В — recipient variety Boyarin; line C101 A-51 — donor of gene $Pi-2$

Боярин, поэтому межподвидовые гибриды F_1 характеризовались продолжительным вегетационным периодом и значительной стерильностью колосков (91–95 %) (рис. 1).

В каждой расщепляющейся широко варьирующей по многим признакам популяции F_2 , состоящей из 310–720 индивидуумов, было отобрано по 20–30 растений, которые характеризовались скороспелостью, низкорослостью, неосыпаемостью и фертильностью колосков. С помощью ПЦР-анализа из них были выделены растения, гомозиготные по доминантным аллелям генов устойчивости.

ПЦР-анализ образцов риса с использованием микросателлитного маркера *RM224* к локусу $Pi-1$ показал, что

он обеспечивает надежный хорошо воспроизводимый результат для идентификации этого гена. Результаты ДНК-маркирования гена $Pi-1$ в растениях F_2 , полученных при гибридизации C101-Lac \times Боярин, показаны на рисунке 2.

Анализ показал, что только растения с номерами 41, 45, 47, 54 несут доминантный аллель $Pi-1$, унаследованный от материнской линии-донора C101-Lac, у остальных он отсутствует, как и у Боярина (В).

Наиболее информативными для анализа аллельных состояний локусов $Pi-2$ и $Pi-33$ являются SSR-маркеры *RM527* и *RM310* соответственно. Результаты электрофоретического разделения продуктов амплификации ДНК растений F_2 с маркером *RM527*, который сцеплен

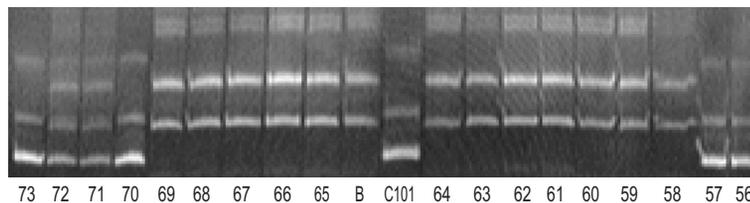


Рис. 4. Результаты разделения методом электрофореза продуктов амплификации ДНК-растений F_2 (С101-Лас × Боярин) с маркером *RM310* к гену устойчивости риса к пирикулярриозу *Pi-33*. *Примечание:* 73–56 — анализируемые растения; В — сорт-реципиент Боярин; линия С101-Лас — донор гена *Pi-33*. При наличии доминантного аллеля *Pi-33* амплифицируется фрагмент размером 85 п. н.

Fig. 4. Results of the separation by electrophoresis of the amplification products of DNA plants F_2 (C101-Lac × Boyarin) with the *RM310* marker to the rice blast resistance gene *Pi-33*. Note: 56-73 — analyzed plants; В — recipient variety Boyarin; line C101-Lac — donor of gene *Pi-33*

с геном *Pi-2*, показаны на рисунке 3. Доминантный аллель устойчивости *Pi-2* донорной родительской линии С101-А-51 был обнаружен в гомозиготном состоянии у генотипов 108, 105, 104. У других растений выявлен только рецессивный аллель от сорта Боярин, и они были выбракованы в ходе селекции.

На рисунке 4 видно, что гибридные растения 70–73, 56, 57 имеют доминантный аллель *Pi-33* от С101-Лас — линии-донора (в том числе у растений 71 и 72 в гетерозиготном состоянии), у остальных он отсутствует, как и у сорта Боярин (В).

У гибридов F_3 от скрещиваний С101-Лас (*Pi-1 + 33*) × Боярин и С101-Лас (*Pi-1 + 33*) × Виразж было выделено большое число среднеспелых гомозиготных линий с двумя доминантными аллелями генов резистентности: *Pi-1* и *Pi-33*.

На следующем, втором этапе (2008) от ступенчатой гибридизации гомозиготных по доминантным аллелям растений [С101-А-51 (*Pi-2*) × Боярин] и [С101-Лас (*Pi-1 + 33*) × Боярин] были получены гомозиготные образцы, несущие все три пирамидированных гена: *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*. Аналогичная работа по объединению генов устойчивости проведена с гибридами на основе сорта Виразж.

В настоящее время модельный сорт риса должен состоять из низкорослых растений, устойчивых к полеганью. Метелка должна быть плотной, продуктивной с большим числом фертильных, не осыпающихся при созревании колосков. Из гибридных растений, обладающих по данным ДНК-анализа тремя пирамидированными генами, контролирующими устойчивость, удалось отобрать три линии (Ил. 13, Ил. 14 и Ил. 28), совмещающие в себе среднеспелость, низкорослость, хорошую озерненность метелки, выполненное зерно.

В таблице 1 представлены сортообразцы с пирамидированными генами широкого спектра устойчивости к пирикулярриозу: *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, на генетической основе сорта Боярин, находящиеся в родительском питомнике лаборатории риса. Для сравнения приводятся также характеристики реципиентной родительской формы — сорта Боярин.

В лаборатории защиты риса Всероссийского НИИ риса в инфекционном питомнике рисовой оросительной системы была проведена фитопатологическая оценка полученных таким образом линий с пирамидированными генами устойчивости к пирикулярриозу *Pi-1 + Pi-2 + Pi-33* и сорта-реципиента Боярин. Тестирование показало их устойчивость (табл. 1).

Таблица 1

Некоторые характеристики сортообразцов риса Ил. 13, Ил. 14 и Ил. 28 с пирамидированными генами устойчивости к пирикулярриозу *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, созданные на генетической основе сорта Боярин с применением методов маркерной селекции

Some characteristics of the accessions with pyramiding blast resistance genes *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, created on the genetic basis of variety Boyarin with MAS

Признак	Сорт, образец				Ошибка средней
	Боярин	Ил. 13	Ил. 14	Ил. 28	
Вегетационный период, дни	116	122	120	128	2,9
Высота растений, см	86	106	78	122	11,5
Длина метелки, см	13,9	17,8	14,6	21,2	1,9
Число колосков в метелке, шт.	114,5	134,7	129,1	153,8	9,4
Масса 1000 зерен, г	29,9	23,1	23,2	28,9	2,1
Масса зерна с метелки, г	3,42	3,11	3,00	4,44	0,4
Устойчивость к пирикулярриозу, балл	8	2	1	2	1,8

Таблица 2

Сортообразцы риса с генами устойчивости к пирикулярриозу $Pi-1 + 2 + 33$ в конкурсном сортоиспытании, 2016 г.

Rice accessions with blast resistance genes $Pi-1 + 2 + 33$ in competitive varieties testing, 2016

Номер делянки 2016 г.	Наименование образца	Период «всходы – созревание», дни	Урожайность, т/га	Устойчивость к пирикулярриозу, балл
Стандарт	Южанин	127	8,48	8
Дон 1664	Магнат	127	8,81	3
Дон 5896	Ил. 13 ($Pi-1 + 2 + 33$)	122	8,43	2
Дон 5841	Ил. 14 ($Pi-1 + 2 + 33$)	120	8,75	1
Дон 5759	Ил. 28 ($Pi-1 + 2 + 33$)	128	8,19	2
	НСР ₀₅	2,2	0,69	

Из селекционного материала гибридной комбинации (С101-А-51 × Боярин) × (С101-Лас × Боярин) с генами $Pi-1$ и $Pi-2$ в 2011 г. был выделен по урожайности образец Дон 1664, который в пересчете на 1 га сформировал более 10 т зерна. Он был изучен в контрольном питомнике 2012 г. и размножен. В 2013 г. он прошел конкурсное сортоиспытание, в котором превысил стандарт Боярин на 1,1 т/га и был передан под названием Магнат на ГСИ с 2014 г. Растения этого сорта высотой 100–110 см. Соколомина толстая, прочная, придающая устойчивость к полеганию. Метелка прямостоячая, рыхлая, длиной 14–15 см. Зерно мелкое, масса 1000 семян — 24 г. В контрольном питомнике 2015 г. Магнат сформировал урожайность 8,65 т/га, а в 2016 г. — 10,8 т/га, превысив стандарт Южанин на 0,79 и 1,62 т/га соответственно. В конкурсном сортоиспытании 2016 г. в ФГУП «Пролетарское» сорт риса Магнат дал урожайность 8,81 т/га, что на 0,34 т/га выше стандарта Южанин.

В этом питомнике хорошую урожайность показали образцы из гибридной комбинации (С101-А-51 × Боярин) × (С101-Лас × Боярин), несущие три гена устойчивости к пирикулярриозу: $Pi-1$, $Pi-2$, $Pi-33$ (табл. 2).

Полученные гомозиготные образцы по трем генам устойчивости к пирикулярриозу ($Pi-1$, $Pi-2$, $Pi-33$) по урожайности были на уровне стандарта. В дальнейшем их использовали в гибридизации с донорами других генов устойчивости — $Pi-b$ и $Pi-ta$.

На третьем этапе исследований в 2010 г. созданные нами трехгенные линии риса ($Pi-1+2+33$) скрестили с донорами генов $Pi-ta$ — Л-10136 и $Pi-b$: Л-10189 — для пирамидирования пяти генов. Гибридизацию проводили по схеме: Ил. 14 ($Pi-1 + 2 + 33$) × F_1 [Л-10189 ($Pi-b$) × Л-10136 ($Pi-ta$)]. Поскольку в качестве отцовской формы был взят гибрид F_1 , полученное потомство было разнородным и несло от 3 до 5 доминантных аллелей. Семена растений первого поколения, у которых на электрофореграммах было выявлено гетерозиготное состояние всех пяти аллелей, в 2012 г. были репродуцированы в поле, где выделили 93 лучших растения F_2 по комплексу хозяйственно ценных признаков.

ПЦР-анализ всех пяти генов показал, что сегрегация по маркерам у изученных гибридов F_2 отличалась от классического соотношения по Менделю 1 : 2 : 1. На эти результаты повлиял отбор, поскольку для ПЦР-анализа брали листья с пригодных для селекционной работы растений, имевших метелки с плодovitыми колосками и полностью созревшим зерном без остей [31].

В процессе анализа удалось выделить два образца риса (1225/13 и 1396/13), у которых все пять доминантных аллелей устойчивости ($Pi-1 + 2 + 33 + ta + b$) были в гомозиготном состоянии. Это значительно выше, чем теоретически ожидаемая частота 1 : 1024, и связано с отбором высокофертильных растений, которые с большей вероятностью являются гомозиготными, чем полустерильные.

Кроме того, обнаружены 4 растения, несущие 4 гена в гомозиготном, а 1 — в гетерозиготном состоянии. В последующие годы из их потомства выделены линии, гомозиготные по 5 генам с частотой 25 %. Данные линии изучены в селекционном питомнике по урожайности, устойчивости к пирикулярриозу и качеству крупы. Осуществлен следующий цикл отборов лучших растений и их ПЦР-анализ.

На рисунке 5 представлены электрофореграммы разделения продуктов амплификации ДНК растений двух линий 1225/13 и 1396/13 (номера проб 2 и 19) с маркерами к тестируемым генам устойчивости к пирикулярриозу.

Линия 1225/13 скороспелая, ее период вегетации составляет в среднем 110 суток, полукарликовая (80 см), с метелкой средней длины (15 см). Вторая линия 1396/13 — среднеспелая, период вегетации до созревания 120 суток, растения более высокие (100 см), метелка длинная (22 см), с большим количеством зерен.

Эти линии испытаны в селекционных посевах по урожайности и устойчивости к пирикулярриозу. Наиболее урожайная линия 1396/13 размножена в 2015 г. и посеяна в 2016 г. в конкурсном испытании и в производственных условиях на площади 0,5 га для изучения продуктивности и качества. Поскольку этот образец

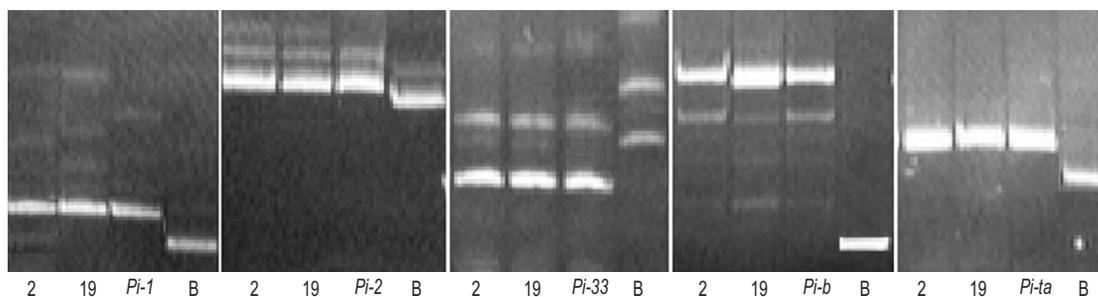


Рис. 5. Электрофореграммы разделения продуктов амплификации ДНК растений риса с маркерами *RM224*, *RM527*, *RM310*, *IGM Pi-b*, *IGM Pi-ta* к пяти генам *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta* соответственно. Линии 1225/13 и 1396/13 (номера проб 2 и 19) имеют доминантные аллели в гомозиготном состоянии в пяти локусах, сорт Боярин (В) — рецессивные. При наличии генов *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta* амплифицируются фрагменты размером 158, 233, 85, 302, 132 п. н. соответственно

Fig. 5. Electrophoregrams for dividing the products of DNA amplification of rice plants with *RM224*, *RM527*, *RM310*, *IGM Pi-b*, *IGM Pi-ta* to five genes *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta*, respectively. Lines 1225/13 and 1396/13 (numbers of samples 2 and 19) have dominant al-leles in the homozygous state in five loci, variety Boyarin (B) — recessive. In the presence of the genes *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta* fragments of 158, 233, 85, 302, 132 bp, respectively, are amplified

обладает пятью генами резистентности к пирикулярриозу — *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta*, он получил название Пентаген [32]. Его урожайность в КСИ 2016 г. составила 6 т/га.

Поскольку растения сорта Пентаген имели понижающие метелки и были склонны к полеганию, его скрестили в 2013 г. с высокопродуктивным сортом Кубояр, имеющим оптимальный габитус растений и компактные прямостоячие метелки. Из 100 растений F_2 комбинации Пентаген × Кубояр в 2015 г. выявлены 23 гомозиготных растения по гену *Pi-1*; 5 — по *Pi-2*; 5 — по *Pi-33*; 13 — по *Pi-b*; 52 — по *Pi-ta*. По результатам ПЦР-анализа были отобраны 7 идентичных сорту Кубояр растений, которые несли доминантные аллели в пяти локусах. При этом у одного из них была гомозиготность по трем локусам, у трех — по двум и у двух — по одному.

На четвертом этапе нашей работы получены образцы риса, несущие шесть доминантных аллелей генов резистентности к пирикулярриозу, у которых, кроме аллелей *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta*, в генотип добавлен *Pi-40*. В качестве донора *Pi-40* использовали образец IR-83243-2-1-24-4-В.

В 2013 г. нами была проведена гибридизация Пентаген × IR-83243-2-1-24-4-В. С лучших по комплексу хозяйственно ценных признаков гибридных растений F_2 взяли отрезки листьев для анализа ДНК с использованием SSR-маркеров к каждому гену, провели ПЦР-анализ образцов и в 2015 г. выявили образцы, несущие в своем генотипе гены устойчивости к пирикулярриозу. При этом были обнаружены гибридные растения с четырьмя, пятью и шестью генами устойчивости: *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta* и *Pi-40*. Они имели длинные понижающие метелки.

Таким образом, многолетние ступенчатые скрещивания на основе сортов Боярин и Вираз позволили создать линии риса с несколькими генами устойчивости к пири-

кулярриозу (*Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta*, *Pi-40*) в гомозиготном состоянии. С помощью современных методов молекулярного маркирования совместно с традиционной селекцией за короткий период времени созданы линии риса, в генотипе которых объединено до шести генов резистентности, обеспечивающих долговременную устойчивость к пирикулярриозу, что снизит риск эпифитотии болезни, сохранит биологическую урожайность риса и позволит получать экологически чистую продукцию.

ВЫВОДЫ

1. В процессе многолетней селекционной работы на генетической базе российских сортов созданы образцы риса, несущие в одном генотипе 2–6 генов устойчивости к пирикулярриозу.
2. С использованием маркер-опосредованной селекции созданы сорта риса Магнат с генами *Pi-1* и *Pi-2* и Пентаген, имеющий пять эффективных генов устойчивости к различным расам возбудителя пирикулярриоза — *Pi-1*, *Pi-2*, *Pi-33*, *Pi-b*, *Pi-ta*.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность И.А. Шилову, Ю.В. Анискиной, А.В. Усатову, М.С. Макаренко, К.В. Азарину, И.И. Супруну, оказавшим помощь в анализе ДНК гибридов риса. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Костылев П.И., Редькин А.А., Краснова Е.В., и др. Создание устойчивых к пирикулярриозу сортов риса с помощью ДНК-маркеров // Вестник российской сельскохозяйственной науки. — 2014. —

- № 1. — С. 26–28. [Kostylev PI, Redkin AA, Krasnova EV, et al. Creating rice varieties, resistant to piriculariosis by means of DNA markers. *Vestnik rossijskoj selskohozyajstvennoj nauki*. 2014;(1):26-28. (In Russ.)]
2. Sharma TR, Rai AK, Gupta SK, et al. Rice blast management through host-plant resistance: Retrospect and prospects. *Agricultural Research*. 2012;1(1):37-52. doi: 10.1007/s40003-011-0003-5.
 3. Костылев П.И., Шилов И.А., Мухина Ж.М. Перенос пяти генов устойчивости риса к пирикулярриозу с помощью ДНК-маркеров // Вестник российской сельскохозяйственной науки. — 2014. — № 2. — С. 33–34. [Kostylev PI, Shilov IA, Mukhina ZhM. Transferring five genes of rice resistance to piriculariose by means of DNA-markers. *Vestnik rossijskoj selskohozyajstvennoj nauki*. 2014;(2):33-34. (In Russ.)]
 4. Flor HH. Current status of the gene-for-gene concept. *Annu Rev Phytopathol*. 1971;9:275-296.
 5. Silue D, Nottoghem JL, Tharreau D. Evidence for a gene-for-gene relationship in the *Oryza sativa* – *Magnaporthe grisea* pathosystem. *Phytopathology*. 1992;82:577-580. doi: 10.1094/phyto-82-577.
 6. Mackill DJ, Bonman JM. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. *Phytopathology*. 1992;82:746-749. doi: 10.1094/phyto-82-746.
 7. Koide Y, Kobayashi N, Xu D, et al. Blast resistance genes and their selection markers in rice (*Oryza sativa* L.). *JIRCAS Working Report*. 2009;63:95-122.
 8. Harushima Y, Yano M, Shomura A, et al. A high-density rice genetic linkage map with 2275 markers using a single F₂ population. *Genetics*. 1998;148:479-494.
 9. Bryan GT, Wu K, Farrall L, et al. A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta*. *Plant Cell*. 2000;12:2033-2045. doi: 10.1105/tpc.12.11.2033.
 10. Wu JL, Fan YY, Li DB, et al. Genetic control of rice blast resistance in the durably resistant cultivar Gumei 2 against multiple isolates. *Theoretical and Applied Genetics*. 2005;111:50-56. doi: 10.1007/s00122-005-1971-2.
 11. Qu S, Liu G, Zhou B, et al. The broad-spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice. *Genetics*. 2006;172:1901-1914. doi: 10.1534/genetics.105.044891.
 12. Zhou B, Qu S, Liu G, et al. The eight amino acid differences within three leucine-rich repeats between *Pi2* and *Piz-t* resistance proteins determine the resistance specificity to *Magnaporthe grisea*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2006;19:1216-1228. doi: 10.1094/MPMI-19-1216.
 13. Jena KK, Moon HP, Mackill DJ. Marker assisted selection – a new paradigm in plant breeding. *Korean J Breed*. 2003;35:133-140.
 14. Correa-Victoria FJ, Tharreau D, Martinez C, et al. Studies on the rice blast pathogen, resistance genes, and implication for breeding for durable blast resistance in Colombia. *Rice Blast: Interaction with Rice and Control*. 2004. P. 215-227. doi: 10.1007/978-0-306-48582-4_26.
 15. Chen XW, Li SG, Ma YQ, et al. Marker-assisted selection and pyramiding for three blast resistance genes, *Pi-d(t)1*, *Pi-b*, *Pi-ta2*, in rice. *Chinese Journal of Biotechnology*. 2004;20(5):708-714.
 16. Hua LX, Liang LQ, Hed XY, et al. Development of a marker specific for the rice blast resistance gene *Pi39* in the Chinese cultivar Q15 and its use in genetic improvement. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2015;29(3):448-456. doi: 10.1080/13102818.2015.1011894.
 17. Chen HQ, Chen ZX, Ni S, et al. Pyramiding three genes with resistance to blast by marker assisted selection to improve rice blast resistance of Jin 23B. *Chinese Journal of Rice Science*. 2008;22(1):23-27.
 18. Divya B, Biswas A, Robin S, et al. Gene interactions and genetics of blast resistance and yield attributes in rice (*Oryza sativa* L.). *J Genet*. 2014;93(2):415-424. doi: 10.1007/s12041-014-0395-7.
 19. Wang ZX, Yano M, Yamanouchi U, et al. The *Pi-b* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes. *The Plant Journal*. 1999;19:55-64. doi: 10.1046/j.1365-313x.1999.00498.x.
 20. Yokoo M, Kikushi F, Fujimaki H, et al. Breeding of blast resistance lines (BL1 to 7) from indica-japonica crosses of rice. *Japan J Breed*. 1978;28:359-385. doi: 10.1270/jsbbs1951.28.359.
 21. Tsunoda Y, Jwa NS, Akiyama K, et al. Cloning of the rice blast resistance gene *Pi-b*. *Developments in Plant Pathology*. 2000;1:9-16. doi: 10.1007/978-94-015-9430-1_2.
 22. Коломиец Т.М. Отбор исходного материала риса для селекции на иммунитет к пирикулярриозу: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Голицино, 1990. — 21 с. [Kolomiciec TM. Otbor iskhodnogo materiala risa dlya selekcii na immunitet k pirikulyariozu [dissertation]. Golicino; 1990. 21 p. (In Russ.)]
 23. Супрун И.И., Ильницкая Е.Т., Мухина Ж.М. Создание внутригенного ДНК-маркера гена устойчивости к пирикулярриозу риса *Pi-b* и его использование в практической селекции // Сельскохозяйственная биология. — 2007. — № 5. — С. 63–66. [Suprun II, Ilnitskaya ET, Mukhina ZhM. Development of intragene DNA-marker for rice blast resistance gene *Pi-b* and its using in practical breeding. *Selskohozyajstvennaya biologiya*. 2007;(5):63-66. (In Russ.)]
 24. Супрун И.И., Шиловский В.Н., Рубан В.Я. Селекционные и молекулярно-генетические методы в создании устойчивых к пирикулярриозу линий риса //

- Вестник российской сельскохозяйственной науки. — 2012. — № 1. — С. 60–62. [Suprun II, Shilovsky VN, Ruban VYa. Breeding and molecular-genetic methods in creating piriculariose-resistant lines in rice. *Vestnik Rossijskoj selskohozyajstvennoj nauki*. 2012;(1):60-62. (In Russ.)]
25. Keen NT. The molecular biology of disease resistance. *Plant Molec Biol*. 1992;19:109-122. doi: 10.1007/978-94-011-2656-4_7.
26. Suh JP, Roh JH, Cho YC, et al. The *Pi40* gene for durable resistance to rice blast and molecular analysis of *Pi40*-advanced backcross breeding lines. *Phytopathology*. 2009;99(3):243-250. doi: 10.1094/PHYTO-99-3-0243.
27. Jeung JU, Kim BR, Cho YC, et al. A novel gene, *Pi-40(t)*, linked to the DNA markers derived from NBS-LRR motifs confers broad spectrum of blast resistance in rice. *Theoretical and Applied Genetics*. 2007;115:1163-77. doi: 10.1007/s00122-007-0642-x.
28. Хавкин Э.Е. Молекулярная селекция растений: ДНК-технологии создания новых сортов сельскохозяйственных культур // Сельскохозяйственная биология. — 2003. — № 3. — С. 26–41. [Khavkin EE. Plant molecular breeding: DNA technologies of creating new crop varieties. *Selskohozyajstvennaya biologiya*. 2003;(3):26-41. (In Russ.)]
29. Murray MG, Thompson WF. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Thompson Nucleic Acids Research*. 1980;10:4321-4325. PMC324241.
30. Stress and disease tolerance. In: <http://www.knowledgebank.irri.org/ricebreedingcourse> 10.12.2016.
31. Костылев П.И., Краснова Е.В., Редькин А.А., и др. Объединение в одном генотипе риса пяти генов устойчивости к пирикулярриозу с помощью ДНК-маркеров // 8-я Междунар. научно-практ. конф. «Биологическая защита растений — основа стабилизации агроэкосистем». — Краснодар, 2014. — С. 25–28. [Kostylev PI, Krasnova EV, Redkin AA, et al. Combined in one rice genotype five blast resistance genes with DNA markers. 8 Mezhdunar. nauchno-prakt. konf. “Biologicheskaya zashhita rastenij — osnova stabilizacii agroekosistem”. (conference proceedings) Krasnodar; 2014. P. 25-28. (In Russ.)]
32. Костылев П.И., Краснова Е.В., Редькин А.А., и др. Пентаген — новый сорт риса с пятью генами устойчивости к пирикулярриозу, созданный с помощью маркерной селекции // Фундаментальные и прикладные исследования в биоорганическом сельском хозяйстве России, СНГ и ЕС. Междунар. научно-практ. конф. (9–12 августа 2016 г.). Мат. докл., сообщ. — М., 2016. — Т. 2. — С. 113–121. [Kostylev PI, Krasnova EV, Redkin AA, et al. Pentagen — new rice of rice with five genes of resistance to blast, created by marker assisted selection. Fundamentalnye i prikladnye issledovaniya v bioorganicheskom selskom hozyajstve Rossii, SNG i ES. Mezhdunar. nauchno-prakt. konf. 9-12.08.2016 (conference proceedings). Moscow; 2016;2:113-121. (In Russ.)]

✿ Информация об авторах

Павел Иванович Костылев — д-р с.-х. наук, заведующий лабораторией селекции и семеноводства риса. ФГБНУ «Аграрный научный центр „Донской“». Ростовская область, Зерноград. E-mail: p-kostylev@mail.ru.

Елена Викторовна Краснова — канд. с.-х. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории селекции и семеноводства риса. ФГБНУ «Аграрный научный центр „Донской“». Ростовская область, Зерноград. E-mail: krasnovaelena67@mail.ru.

Александр Александрович Редькин — канд. с.-х. наук, научный сотрудник лаборатории селекции и семеноводства риса. ФГБНУ «Аграрный научный центр „Донской“». Ростовская область, Зерноград. E-mail: Rs.07.Pro@mail.ru.

Елена Викторовна Дубина — канд. биол. наук, заведующая лабораторией биотехнологии и молекулярной биологии. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт риса», Краснодар. E-mail: lenakrug1@rambler.ru.

Жанна Михайловна Мухина — д-р биол. наук, зам. директора по инновациям. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт риса», Краснодар. E-mail: agroplazma@gmail.com.

✿ Information about the authors

Pavel I. Kostylev — doctor of agricultural sciences, head, laboratory of breeding and seed production of rice. Agrarian Scientific Center “Donskoy”, Zernograd, Rostov region, Russia. E-mail: p-kostylev@mail.ru.

Elena V. Krasnova — candidate of agricultural sciences, leading researcher, laboratory of breeding and seed production of rice. Agrarian Scientific Center “Donskoy”, Zernograd, Rostov region, Russia. E-mail: krasnovaelena67@mail.ru.

Aleksandr A. Red'kin — candidate of agricultural sciences, researcher, laboratory of breeding and seed production of rice. Agrarian Scientific Center “Donskoy”, Zernograd, Rostov region, Russia. E-mail: Rs.07.Pro@mail.ru.

Elena V. Dubina — cand. of Biol. Sci., head of the laboratory. All-Russian Research Institute of Rice. Krasnodar, Russia. E-mail: lenakrug1@rambler.ru.

Zhanna M. Mukhina — doctor of biological sciences, Deputy Director on innovation. All-Russian Research Institute of Rice. Krasnodar, Russia. E-mail: agroplazma@gmail.com.