

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 5, Number 311 (2015), 84 – 91

IDENTIFICATION OF SOURCE OF RICE RESISTANCE TO PYRICULARIA ORYZAE

A. S. Rsaliyev, Zh. U. Pakhratdinova, N. T. Amirkhanova, G. Sh. Yskakova

RGE «Research institute for biological safety problems» CS ME&S RK Gvardeiskiy, Kazakhstan.
E-mail: aralbek@mail.ru

Keywords: rice, rice blast, isolate, resistance gene, molecular markers.

Abstract. In recent years, the rice-growing regions of Kazakhstan suffer from the most dangerous and harmful disease of rice – *Pyricularia oryzae*. Evaluation of varieties and lines rice resistance to rice blast was provided with using phytopathological and molecular methods. The selective materials of rice are differentiated on resistance level and susceptibility to diseases on the infectious background. More than 30 varieties and lines of rice with high level of vertical and horizontal resistance to rice blast are detected. The molecular screening showed that 8 samples of rice has Pi-ta resistance gene, 5 samples – Pi-z, 8 samples – Pi-2, respectively. It has been demonstrated that the detected varieties with Pi-genes can be resistance sources to rice blast not only in Kazakhstan, also worldwide. Involvement in selection process of rice varieties with highly effective Pi-genes raises possibility of creation of new resistance of rice to rice blast.

УДК633.18.03:632.4.01.08

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ИСТОЧНИКОВ УСТОЙЧИВОСТИ РИСА К ПИРИКУЛЯРИОЗУ

А. С. Рсалиев, Ж. У. Паҳратдинова, Н. Т. Амирханова, Г. Ш. Ыскакова

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК,
пгт. Гвардейский, Казахстан

Ключевые слова: рис, пирикуляриоз, изолят, гены устойчивости, молекулярные маркеры.

Аннотация. В последние годы в рисосеющих регионах Казахстана стала распространяться самая опасная и вредоносная болезнь риса – пирикуляриоз. С использованием фитопатологических и молекулярных методов проведена оценка устойчивости сортов и линий риса к пирикуляриозу. На инфекционном фоне селекционные материалы риса дифференцированы по уровню устойчивости и восприимчивости к болезни. Выявлено более 30 сортов и линий риса с высоким уровнем вертикальной и горизонтальной устойчивости к пирикуляриозу. Молекулярный скрининг показал наличие у 8 образцов риса гена устойчивости Pi-ta, у 5 образцов – Pi-z, у 8 образцов – Pi-2, соответственно. Установлено, что выявленные сорта с Pi-генами могут служить источниками устойчивости к возбудителю пирикуляриоза риса не только в Казахстане, также во всем мире. Вовлечение в селекционный процесс сортов риса с высокоэффективными Pi-генами повышает возможность создания новых устойчивых форм риса к пирикуляриозу.

Введение. Одним из опасных заболеваний риса во всем мире, в том числе и в Казахстане, является пирикуляриоз, вызываемый несовершенным грибом *Pyricularia oryzae* Br. et Cav. (синоним *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr). Болезнь впервые был отмечен в Китае в 1637 году. Позже оно стало известно в Японии в 1704 году, в Италии в 1828 году и в США в 1876 году. Сейчас пирикуляриоз встречается во всех районах возделывания риса. Патоген поражает все надземные органы растения, что приводит к потере урожая на 30-60%, а в годы эпифитотий – на 80-100% [1-4].

В Казахстане основной ареал распространения и вредоносности болезни находится в Кызылординской области. При этом пирикуляриоз риса впервые в этом регионе был зафиксирован в 1950 годы [5]. Затем до середины 1990 годов это заболевание здесь не отмечалось. Эпифитотии болезни в Сырдаринском, Жалагашском, Жанакорганском районах наблюдались в 1998 г. и были обусловлены благоприятными погодными условиями [6]. В 2005 году рис был поражен в отдельных хозяйствах, где были нарушены технологии применения минеральных удобрений, в 2006 году вновь зафиксирована вспышка этой болезни [7]. В 2012 году очаги пирикуляриоза обнаружены на рисовых чеках в Кармакшинском, Сырдаринском, Шиелийском районах, где потери зерна доходили до 25% [8]. В 2013-2014 годы нами проведен фитосанитарный мониторинг на производственных посевах в Казалийском, Кармакшинском, Жанакорганском, Сырдаринском и Шиелийском районах Кызылординской области. В результате в конце июля – начале августа повсеместно отмечены очаги пирикуляриоза, заболевание выражено в листовой и метельчатой формах.

По научной и экономической важности возбудитель пирикуляриоза риса *P. oryzae* возглавляет «Топ-10» грибных болезней растений. Эксперты подчеркивают экономическое значение этого гриба, так как он может буквально уничтожать рисовые поля, являющиеся основой для пропитания половины населения Земли [9]. Возбудитель *P. oryzae* образует фитотоксины – пирикулярин и α-пиколиновую кислоту, вызывающие у растений типичные симптомы заболевания. Устойчивые к пирикуляриозу сорта риса устойчивы и к действию этих токсинов [10].

В настоящее время наиболее практичным и экономичным подходом в борьбе с пирикуляриозом риса является использование сортов, имеющих гены устойчивости к болезни. Гены устойчивости к пирикуляриозу обозначаются символом «*Pi*» – от английского названия *Pyricularia* (пирикуляриоз). До настоящего времени в мире были определены 100 генов устойчивости к пирикуляриозу риса, и они локализованы в 11 хромосомах риса, за исключением хромосомы 3. Среди них некоторые гены были клонированы (*Pib*, *Pita*, *Pi9*, *Pi2*, *Piz-t*, *Pid2*, *Pi36*, *Pi37*, *Pik-m*, *Pit*, *Pi5*, *Pid3*, *pi21*, *Pb1*, *Pish*, *Pik*, *Pik-p*, *Pi54*, *Pia*, *NLS1* и *Pi25*) [11]. Все клонированные гены устойчивости принадлежат к наиболее распространенному классу генов устойчивости растений – NBS-LRR, кодирующих белки, в структуру которых входит нуклеотид-связывающий домен – *nucleotide binding site* (NBS), а также рецепторная область, богатая лейцином – *leucine rich repeat* (LRR). Полные нуклеотидные последовательности *Pi*-генов устойчивости доступны в открытой базе генетических данных GenBank (www.ncbi.nih.gov) и Gramene (www.gramene.org).

В соответствии с тем, какие гены представлены в генотипе, определяется уровень устойчивости растений риса к этому патогену. Вместе с тем, в селекционно-генетических программах могут использоваться комбинации разных генов. Успех создания сортов риса, резистентных к пирикуляриозу, во многом определяется наличием источников, несущих высокоэффективные гены устойчивости. В настоящее время во многих рисосеющих странах мира высокоеффективными к пирикуляриозу являются гены *Pi-ta*, *Pi-z* и *Pi-2*. В связи с этим целью нашей работы было выделить сорта и линии риса, которые могли бы служить источниками эффективных *Pi*-генов устойчивости к пирикуляриозу.

Материалы и методы

Материалом для исследований были коллекционные сорта и образцы риса, имеющиеся в генофонде НИИПББ, а также новые и коммерческие сорта в Казахстане и России. Всего использовано 146 сортообразцов риса мировой селекции. В качестве инфекционного материала использовали конидии разных изолятов возбудителя *P. oryzae* (Po_3-1, Po_4-1, Po_5-1, Po_9-6), выделенных из казахстанской популяции гриба (таблица 1).

Устойчивость образцов риса оценивали в лабораторных условиях на искусственном инфекционном фоне в фазе 2-3 листьев растений. Для создания инфекционного фона использовали метод «инокуляция отрезки листьев фильтровальной бумагой, пропитанной суспензией гриба» [12]. При этом отрезки листьев (2-3 см) раскладывали в чашки Петри на поверхность 0,5 % агара, приготовленного на 0,004 % растворе бензимидазола. На поверхность каждого листа прикладывали фильтровальную бумагу, пропитанную суспензией гриба. Чашки Петри с инокулированными

Таблица 1 – Характеристики изолятов возбудителя *P. Oryzae*

Изоляты	Форма пирикуляриоза	Происхождение	Тип колонии	Годы выделения изолята
Po_3-1	Листовая	Казалинский район, с/о Коларык, ЗАО «Жалантос батыр»	A	2013-2014
Po_4-1	Листовая	Казалинский район, с/о Карапенгел, ЗАО «Жалантос батыр»	P	2014-2015
Po_5-1	Листовая	Кармакшинский район, с/о Дауылкол, ЗАО «Турмагамбет»	A	2014-2015
Po_9-6	Листовая	Сырдаринский район, с. Калжанахун, хозяйства «Бак»	B	2014-2015

отрезками листьев помещали в затемненное место на 24-36 ч при температуре 25 °C, затем переносили на светоустановку с 12-часовым режимом освещения и температурой 22-25 °C и удаляли фильтровальные бумаги с поверхности каждого листа. На 8 день после заражения проводили оценку устойчивости сортов риса к изолятам гриба по шкале Международного института риса [13]. При этом поражение сортов с типом реакции 0 балла – относился к иммунной группе, 1 балла – устойчивой, 2-3 балла – умеренно устойчивой, 4-5 балла – умеренно восприимчивой, 6-7 – восприимчивой, 8-9 балла – сильно восприимчивой.

Для проведения молекулярного скрининга использованы ДНК-маркеры, тесно сцепленные с эффективными Pi-генами устойчивости к пирикуляриозу (таблица 2).

Таблица 2 – Характеристики ДНК маркеров к Pi-генам устойчивости к пирикуляриозу риса

Ген	Праймеры	Последовательность праймеров	Продукт амплификации, п.н.	Источник
Pi-ta	Pi-ta F1	GCCGTGGCTTCTATCTTTACCTG	290/563	14
	Pi-ta R1	ATCCAAGTGTAGGGCCAACATTG		
	Pi-ta F2	TTGACACTCTCAAAGG ACTGGGAT		
	Pi-taR2	TCAAGTCAGGTTGAAGATGCATAGA		
Pi-z	Z60510Piz-F	GGAGTTGGTTGCGACGGTGCGTTAT	390	15
	Z60510Piz-R	GCGCGGACCGGCCAGCTAGTTGAC		
Pi-2	AP22-F	GTGCATGAGTCCAGCTAAA	143	16
	AP22-R	GTGTACTCCCCATGGCTGCTC		

Праймеры синтезировали на синтезаторе олигонуклеотидов H-16 ДНК/РНК/LNA (Германия), согласно инструкции, прилагаемой к прибору. При этом полученные олигонуклеотиды разделили с колонок концентрированным раствором аммиака и выпаривали в вакуумном испарителе Centri Vap Concentrator (Labconco). Преципитат праймеров растворяли в TE буфере и переосаждали этанолом. Полученные таким образом синтезированные праймеры использовали для постановки ПЦР.

Экстракцию ДНК риса осуществляли из листьев 7-10 дневных проростков, согласно методике Dellaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. [17]. Для постановки ПЦР использовали геномная ДНК риса, 10x ПЦР буфер (без MgCl₂), 10 mM dNTP-Mix, 50 mM MgCl₂, праймеры (10 pmol), TaqDNA polymerase (5U/μl) и бидистиллированная вода. Реакционный состав и температурно-временные режимы подбирали согласно аннотации, прилагаемой к ферменту и характеристикам праймеров. В качестве положительного контроля использовали ДНК сортов риса Yashiro-mochi, Zenith и линии С 101A51, которые являются источниками генов устойчивости Pi-ta, Pi-z и Pi-2, а отрицательным контролем служила дезионизированная вода. Наработку специфических участков ДНК проводили в термоциклире «Tetmocycler-Pro» (Eppendorf).

Выявление продукта ПЦР проводилось при помощи электрофореза в 1,5 % агарозном геле (iNtRON, Biotechnology Grade). Разделение амплифицированных фрагментов выполняли в электрофорезной камере «Scie-Plas» в ТВЕ буфере с добавлением бромистого этидия в течение 1,5 часов

при напряжении электрического поля 80 V. Анализ результатов электрофореза проводилось с использованием гель-документирующей системы «MiniBISPro» с программным обеспечением GelCapture и GelQuantExpress. Определение длин амплифицированных фрагментов проводилось по сравнению с ДНК – маркерами «1kbDNALadder» (InvitrogenCorporation).

Результаты исследований и их обсуждение

Результаты эксперимента показали, что изученные сорта и линии риса характеризуется широкой амплитудой изменчивости по устойчивости к пирикуляриозу. При использовании различных изолятов гриба встречаются образцы всех групп устойчивости – от сильно восприимчивых до абсолютно устойчивых. В результате анализа полученных данных, коллекционные образцы риса сгруппированы по типам реакции устойчивости к пирикуляриозу (рисунок 1).

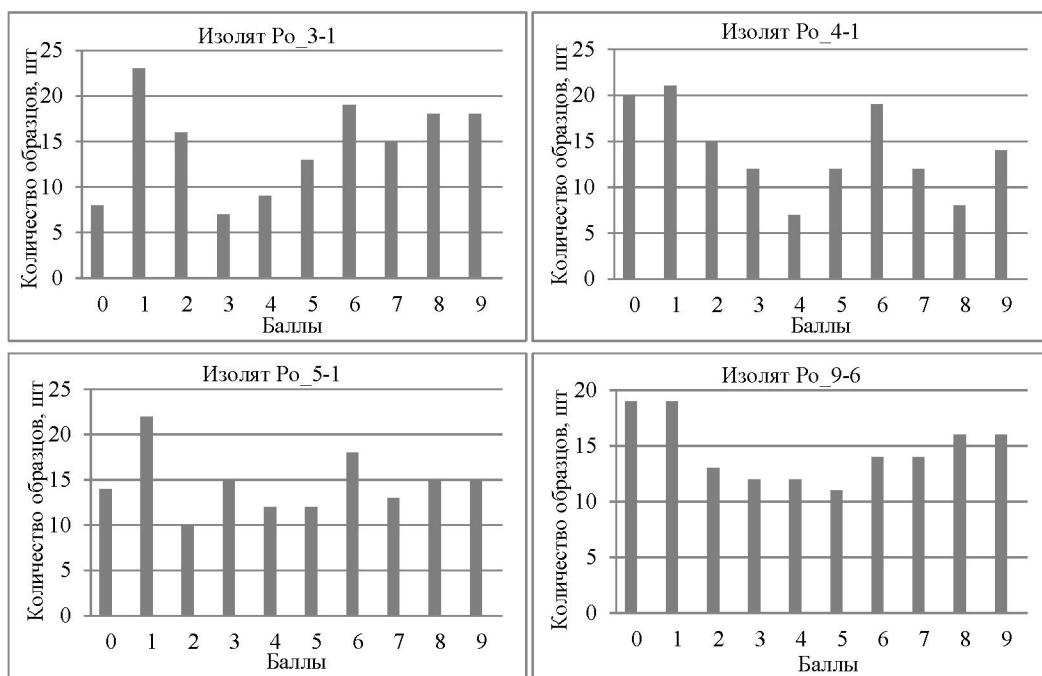


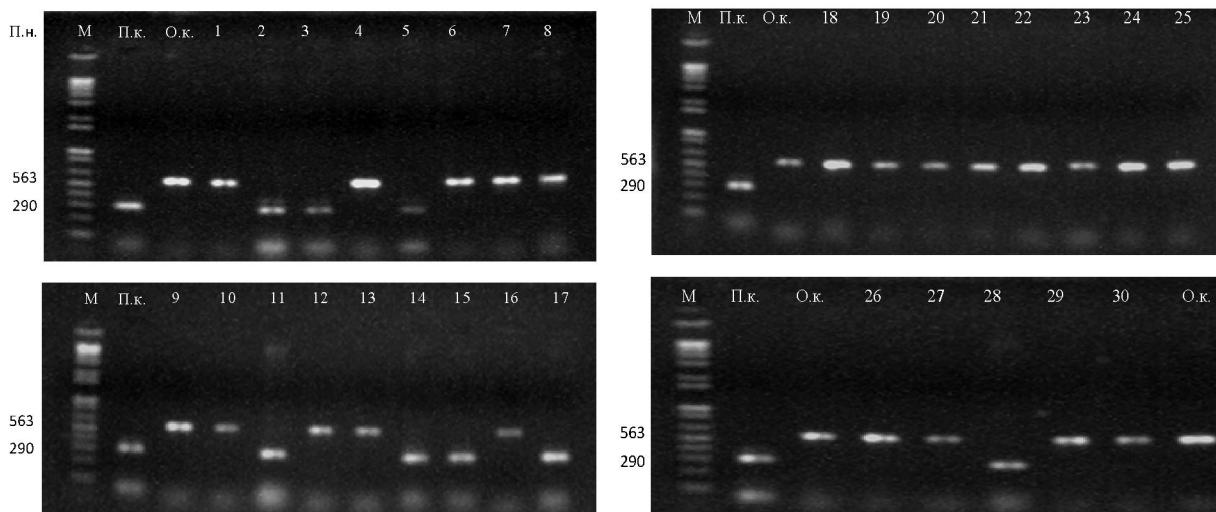
Рисунок 1 – Распределение сортообразцов риса по типам реакции устойчивости к изолятам пирикуляриоза

Как видно из данных рисунка 1, что среди использованных изолятов пирикуляриоза к сортам риса наиболее вирулентным был изолят Po_3-1. При этом из всего изученных материалов растений 8 сортов и линии риса оказались иммунными к данному изоляту, и соответственно, 23 – устойчивыми, 7 – умеренно устойчивыми, 22 – умеренно восприимчивыми, 34 – восприимчивыми и 36 – сильно восприимчивыми. Изоляты Po_4-1 и Po_9-6 показали наименшую вирулентность к коллекционным сортам риса, а изолят Po_5-1 имеет среднюю вирулентность. В ходе экспериментов выявлены более 30 сортов и линии риса ближнего и дальнего зарубежья (Amerilambda B, Livorno, Matusaska, Лазурный, Shinsetsu, Sorachi, Iukara, Ishikari, Fujisaka 5, Shin 2, Садри Массол, Sollano, Capgramma, Юбилейный, Zurru 10, Szarvasi 70, Nucleorisa, Камертон, Лиман, Американ шалы, Кзыл-шалы, Арпа-шалы, Кубанский 140, Краснодар 3352, Дин-сян, Апорна, China Feng, M-3902, M-1060, M-194I), обладающие высокой устойчивостью к четырем изолятам пирикуляриоза. Из использованных изолятов ни один не был вирулентным к указанным сортам. Следует отметить, что данные образцы в полевых условиях также были устойчивыми к листовой, узловой и метельчатой формам патогена. Кроме того, российские сорта Победа-65, ВНИИР-102-24, ВНИИР-101-77, ВНИИР-101-78, ВНИИР-102-20, ВНИИР-101-78, узбекский сорт Искандер и итальянский сорт Бальдо показали высокую устойчивость ко всем изолятам гриба, при этом имели тип реакции в 0 и 1 балла. Таким образом, на основе полученных результатов установлено, что выявленные сорта и линии риса с высокой устойчивостью могут быть носителями эффективных Pi-генов устойчивости к пирикуляриозу, и они являются цennymi донорами для селекции на иммунитет.

Следующим этапом работы было проведение молекулярный скрининг сортов риса с целью выявления носителей эффективных генов устойчивости к пирикуляриозу. В общей сложности было тестирано 60 сортов риса. В их геноме с помощью ДНК-маркеров на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР) определяли присутствие следующих генов устойчивости к пирикуляриозу – *Pi-ta*, *Pi-z* и *Pi-2*.

Доминантный ген устойчивости к пирикуляриозу *Pi-ta* секвенирован, он расположен в области центромеры 12-той хромосомы риса. Нуклеотидные последовательности доминантной (источник – сорт *Yashiro-mochi*) и рецессивной (источник – *Tsuylake*) аллелей гена *Pi-ta* находятся в базе генетических данных GenBank с номерами – AF207842 и AY196754, соответственно. При этом доминантная и рецессивная аллели этого гена отличаются одной аминокислотной заменой кодируемого геном белка: в положении 918 серина на аланин. Это обуславливает наличие двух аллелей данного гена: *Pi-ta*⁻ и *Pi-ta*⁺. Для идентификации гена *Pi-ta* подобрано две пары праймеров, так, что в каждой паре праймеров один является специфичным для конкретной аллели. При использовании специфичных праймеров размер ПЦР-продукта у сортов с устойчивой аллелью гена *Pi-ta* составляет около 290 п.н., а у сортов с восприимчивой аллелью – 563 п.н., соответственно.

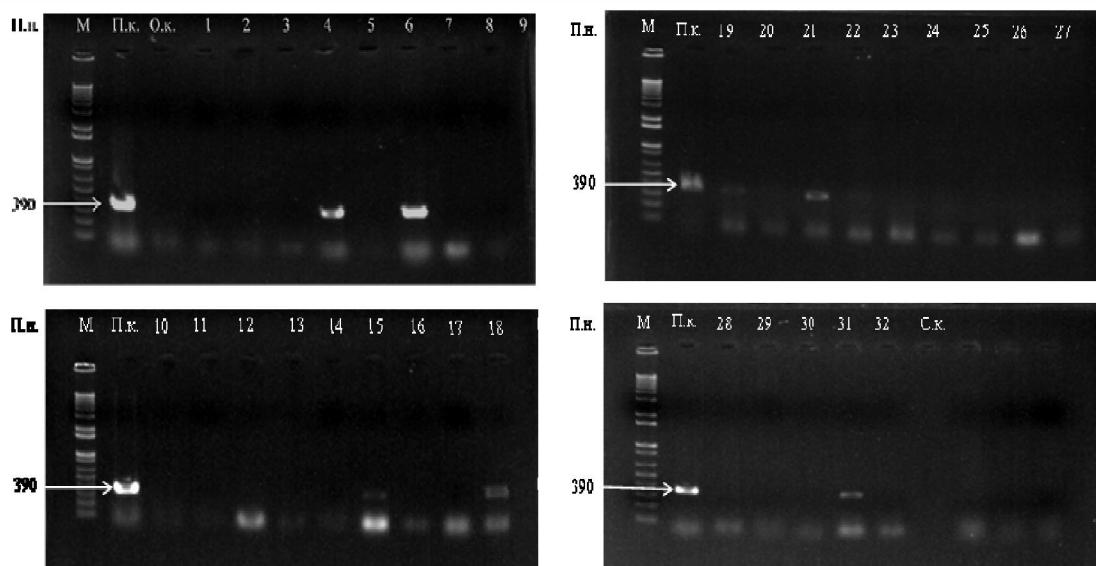
Результаты эксперимента показали, что у сортов *Livorno*, *Matusaska*, *Shinsetsu*, *Садри Массол*, *Юбилейный*, *Zurru 10*, *Nucleorisa* и *M-3902* присутствует только фрагмент, аналогичный по размеру ПЦР-продукту положительного контроля, что говорит о наличии у них доминантной аллели устойчивости в гомозиготном состоянии. Остальные исследованные сорта несут рецессивную аллель гена (рисунок 2).



M – маркер (1kbLadder), П.к. – положительный контроль, О.к. – отрицательный контроль, 1 – AmerilambdaB, 2 – *Livorno*, 3 – *Matusaska*, 4 – *Лазурный*, 5 – *Shinsetsu*, 6 – *Sorachi*, 7 – *Iukara*, 8 – *Ishikari*, 9 – *Fujisaka* 5, 10 – *Shin 2*, 11 – *СадриМассол*, 12 – *Sollano*, 13 – *Capgramma*, 14 – *Юбилейный*, 15 – *Zurru 10*, 16 – *Szarvasi 70*, 17 – *Nucleorisa*, 18 – *Камертон*, 19 – *Лиман*, 20 – Американ шалы, 21 – Кзыл-шалы, 22 – Арпа-шалы, 23 – Кубанский 140, 24 – Краснодар 3352, 25 – *Дин-сян*, 26 – *Апорна*, 27 – *China Feng*, 28 – *M-3902*, 29 – *M-1060*, 30 – *M-194*

Рисунок 2 – Молекулярный скрининг коллекционных сортов риса для выявления доминантных и рецессивных аллелей устойчивости гена *Pi-ta*

Ген устойчивости к пирикуляриозу *Pi-z*, локализованный в хромосоме 6, был идентифицирован как объединенный в кластер с геном *Pi-zt*, определяемый как *Pi-z* локус. Кроме того, был создан ряд ДНК-маркеров к ним, основанных на полиморфизме единичных нуклеотидных замен (SNP) у доминантных и рецессивных аллелей генов. При использовании праймера *Z60510Piz* продукт амплификации размером 390 п.н. указывает на доминантной аллели данного гена. В результате ПЦР, специфический продукт амплификации размером 390 п.н. нарабатывался на следующих коллекционных сортах риса: *Лазурный*, *Sorachi*, *Zurru 10*, *Камертон* и *Кзыл-шалы*. Следует отметить, что у сорта *Zurru 10* также был идентифицирован ген устойчивости *Pi-ta*. Результаты исследований представлены на рисунке 3.

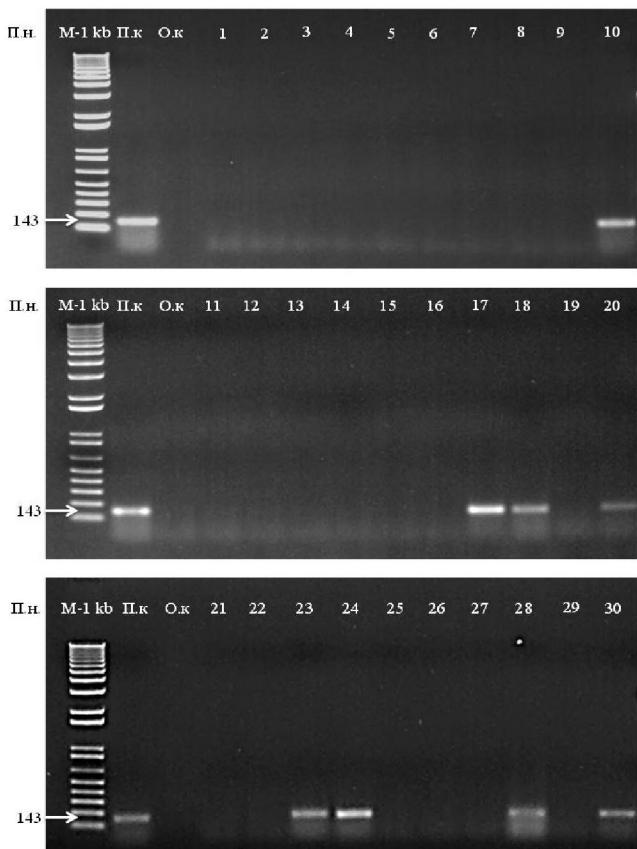


M – маркер (1kb Ladder), П.к – положительный контроль, О.к – отрицательный контроль, 1 – AmerilambdaB, 2 – Livorno, 3 – Matusaska, 4 – Лазурный, 5 – Shinsetsu, 6 – Sorachi, 7 – Iukara, 8 – Ishikari, 9 – Fujisaka 5, 10 – Shin 2, 11 – Садри Массол, 12 – Sollano, 13 – Capgramma, 14 – Юбилейный, 15 – Zurru 10, 16 – Szarvasi 70, 17 – Nucleorisa, 18 – Камертон, 19 – Лиман, 20 – Американ шалы, 21 – Кзыл-шалы, 22 – Арпа-шалы, 23 – Кубанский 140, 24 – Краснодар 3352, 25 – Дин-сян, 26 – Апорна, 27 – China Feng, 28 – M-3902, 29 – M-1060, 30 – M-194, 31 – П.к, 32 – Лиман

Рисунок 3 – Молекулярный скрининг коллекционных сортов риса для выявления доминантного аллеля гена устойчивости Pi-z

M – маркер DNA Ladder, П.к – положительный контроль, О.к – отрицательный контроль, 1 – Маржан, 2 – Ары, 3 – Түгісken, 4 – Арап-202, 5 – Казниир-5, 6 – КазЕр-6, 7 – Мадина, 8 – Лидер, 9 – Янтарь, 10 – Новатор, 11 – Анаит, 12 – Сонет, 13 – Фишт, 14 – Ившика, 15 – Атлант, 16 – Шарм, 17 – Крепыш, 18 – Виола, 19 – Царин, 20 – Флагман, 21 – Рубин, 22 – Виолетта, 23 – Победа-65, 24 – ВНИИР-102-24, 25 – ВНИИР-101-77, 26 – ВНИИР-101-78. без ост., 27 – ВНИИР-102-20, 28 – ВНИИР-101-78. ост., 29 – Искандер, 30 – Бальдо

Рисунок 4 – Молекулярный скрининг коллекционных сортов риса для выявления доминантного аллеля гена устойчивости Pi-2



Ген Pi-2 расположен около центромеры в коротком плече хромосомы 6, тесно связан с генами Pi-9, Piz и Piz-t [18, 19]. Данный ген интогрессирован в геном изогенный линии C101A51 из сорта риса *indica* 5173 [20]. К настоящему времени разработано несколько молекулярных маркеров,

тесно сцепленных с геном Pi-2. Ранее было установлено, что ген Pi-2 генетически отображается между маркерами 2123 и RG64, с интервалом расстояний 2.2 сМ [19]. Для идентификации носителей гена Pi-2 нами был выбран маркер AP22 к SSR-локусу, генетическое расстояние между маркером и геном оценивается в 1,2 сМ [21].

С целью выявления носителей данного гена нами протестираны 30 коммерческих и новых сортов риса Казахстана и России. При использовании специфичного праймера AP22, характерный фрагмент амплификации в размере 143 п.н. обнаружен у сортов Новатор, Крепыш, Виола, Флагман, Победа-65, ВНИИР-102-24, ВНИИР-101-78 и Бальдо. На основе полученных результатов можно предположить, что вышеотмеченные сорта являются носителями гена устойчивости Pi-2. Результаты исследований показаны на рисунке 4. Следует отметить, что данный ген еще широко не используется в селекции, в связи, с чем он должен играть определенную роль при создании новых сортов риса в комбинации с другими генами.

Выводы. Таким образом, в результате использования фитопатологических и молекулярно-генетических методов охарактеризовано 146 сортов и линий риса мировой селекции. Выявлено более 30 сортов и линий риса с высоким уровнем вертикальной и горизонтальной устойчивости к пирикуляриозу. Молекулярный скрининг показал наличие у 8 образцов риса гена устойчивости Pi-ta, у 5 образцов – Pi-z, у 8 образцов – Pi-2, соответственно. Выявление устойчивых форм риса на искусственном фоне развития пирикуляриоза способствуют увеличению селекционных работ по созданию болезнеустойчивых сортов. В настоящее время отобранные нами источники устойчивости с эффективными Pi-генами используются селекционерами Казахского научно-исследовательского института рисоводства имени Й. Жахаева для получения новых сортов риса, устойчивых к пирикуляриозу. Следовательно, использование в селекции выделенных сортов и линий риса с эффективными генами устойчивости к пирикуляриозу способствует сохранению урожая на 15-40% и повышению качества зерна.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Wang X., Lee S., Wang J., Ma J., Bianco T., Jia Y. Current advances on genetic resistance to rice blast disease. *Rice – Germplasm, Genetics and Improvement*. 2014. – 195-217. <http://dx.doi.org/10.5772/56824>.
- [2] Wang G.L., Valent B. *Advances in genetics, genomics and control of rice blast disease*. Springer Science+Business Media B.V. 2009. – 27 p. DOI 10.1007/978-1-4020-9500-9.
- [3] Мухина Ж.М., Волкова С.А., Дубина Е.В. Изучение биоразнообразия фитопатогенного гриба *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr с использованием методов молекулярного маркирования (Методические рекомендации). – Краснодар: ВНИИриса. 2007. – 19 с.
- [4] Jena K.K., Moon H.P., Mackill D.J. Marker assisted selection- a new paradigm in plant breeding // *Korean J. Breed.* 2003. – Vol.35. – P. 133-140.
- [5] Казенас Л.Д. Болезни сельскохозяйственных растений Казахстана. – Алма-Ата: Кайнар, 1974 – 366 с.
- [6] Койшибаев М. Болезни зерновых культур. – Алматы: Бастау, 2002. – 368 с.
- [7] Абильдаева Ж.А. Основные болезни риса в Приаралье и меры борьбы с ними / Кызылординский Государственный Университет им. Коркыт-Ата – 2006. http://www.rusnauka.com/ESPR_2006/Agricole/5_abildaeva.doc.htm
- [8] ЖакибаеваМ. Когда цветет рис // Кызылординские вести. http://kv.ucoz.kz/news/_kogda_cvetet_ris/2012-07-26-11093.26.07.2012.
- [9] Dean R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. // *Mol. Plant Pathol.* 2012. – Vol.13. – P.804-804.
- [10] Мусаев Ф.А., Захарова О.А., Морозова Н.И. Класс несовершенные грибы (Учебное пособие). – Рязань: Издательство РГАТУ. 2014. – 135 с.
- [11] Sharma T. R., Rai A. K., Gupta S. K., Vijayan J., Devanna B. N., Ray S. Rice Blast Management Through Host-Plant Resistance: Retrospect and Prospects. // *Agric Res.* DOI 10.1007/s40003-011-0003-5. 2012. – Vol.1. – P.3-18.
- [12] Takahashi W., Miura Y., Sasaki T. A novel inoculation method for evaluation of grey leaf spot resistance in Italian ryegrass // *Journal of Plant Pathology*. – 2009. – Vol. 91. – No. 1. – P. 171-176.
- [13] Standard Evaluation System for rice // 4th edition; IRRI, INGER Genetic Resources Center. – Manila, Philippines, 1996. – P. 49.
- [14] Мухина Ж.М., Токмаков С.В., Мягких Ю.А., Дубина Е.В. Создание внутригенных молекулярных маркеров риса для повышения эффективности селекционного и семеноводческого процессов. // Научный журнал КубГАУ. 2011. №67(03). – С.1-10.
- [15] Kim J.S., Ahn S.N., Kim C.K., Shim C.K. Screening of rice blast resistance genes from aromatic rice germplasms with SNP markers. // *Plant Pathol. J.* 2010. – Vol.26. – P.70-79.
- [16] Wu J.H., Jiang J.S., Chen H.L., Wang S.P. Fine mapping of rice blast resistance gene Pi2(t) // *Acta Agronica Sinica*. – 2002. – Vol. 28. – P.505-509.
- [17] Dellaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA minipreparation: version II. // *Plant. Mol Biol. Rep.* 1983. – Vol.1. – P.19-21.
- [18] Hauashi K., Hashimoto N., Daigen M., Ashikawa I. Development of PC-based SNP markers for rice blast resistance genes at the Piz locus // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2004. – Vol.108. – P.1212-1220.

- [19] Liu G., Lu G., Zeng L., Wang G.L. Two broad-spectrum blast resistance genes Pi9 (t) and Pi2 (t), are physically linked on rice chromosome 6 // Mol.Genet.Genomics. – 2002. – Vol. 267. – P.472-480.
- [20] Mackill D.J., Bonman J.M. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice // Phytopathology. – 1992. – Vol. 82. – P.746-749.
- [21] Wu J.H., Jiang J.S., Chen H.L., Wang S.P. Fine mapping of rice blast resistance gene Pi2(t) // ActaAgronicaSinica. – 2002. – Vol. 28. – P.505-509.

REFERENCES

- [1] Wang X., Lee S., Wang J., Ma J., Bianco T., Jia Y. Current advances on genetic resistance to rice blast disease. Rice – Germplasm, Genetics and Improvement. 2014. – 195-217. <http://dx.doi.org/10.5772/56824>.
- [2] Wang G.L., Valent B. Advances in genetics, genomics and control of rice blast disease. Springer Science+Business Media B.V. 2009. – 27 p. DOI 10.1007/978-1-4020-9500-9.
- [3] Mukhina J.M., Volkov S.A., Dubina E.V. The study of biodiversity plant pathogenic fungus *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr using methods of molecular marking (Guidelines). Krasnodar Research Institute of rice. 2007. P.19. (in Russ.).
- [4] Jena K.K., Moon H.P., Mackill D.J. Marker assisted selection- a new paradigm in plant breeding // Korean J. Breed. 2003. – Vol.35. – P. 133-140.
- [5] KazenasL.D. Diseases of agricultural plants in Kazakhstan. Alma-Ata: Kaynar, 1974. 366 p.(in Russ.).
- [6] Koishbayev M. Diseases of cereal crops. -Almaty Bastau, 2002. 368p.(in Russ.).
- [7] Abildaeva J.A. Main diseases of rice in the Aral Sea region and their control/Kyzylorda State University. Korkyt-Ata - 2006. http://www.rusnauka.com/ESPR_2006/Agricole/5_abildaeva.doc.htm(in Russ.).
- [8] Zhakibaeva M. When the blossoms //Figure Kyzylordinskielead. http://kv.ucoz.kz/news/kogda_cvetet_ris/2012-07-26-11093.26.07.2012. (in Russ.).
- [9] Dean R. et al. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. // Mol. PlantPathol. 2012. – Vol.13. – P.804-804.
- [10] Musayev F.A., Zakharova O., Morozova N.I. Class of imperfect fungi(Tutorial). - Ryazan: Publishing Framework. 2014.135 p.(in Russ.).
- [11] Sharma T. R., Rai A. K., Gupta S. K., Vijayan J., Devanna B. N., Ray S. Rice Blast Management Through Host-Plant Resistance: Retrospect and Prospects. //Agric Res. DOI 10.1007/s40003-011-0003-5. 2012. – Vol.1. – P.3-18.
- [12] Takahashi W., Miura Y., Sasaki T. A novel inoculation method for evaluation of grey leaf spot resistance in Italian ryegrass // Journal of Plant Pathology. – 2009. – Vol. 91. – No. 1. – P. 171-176.
- [13] Standard Evaluation System for rice // 4th edition; IRRI, INGER Genetic Resources Center. – Manila, Philippines, 1996. – P. 49.
- [14] Mukhina J.M., Tokmak S.V. ,Soft J.A., DubinE.V. Create intragenic molecular markers to improve the efficiency of rice breeding and seed production process. //Scientific journal KubGAU. 2011. №67 (03). P.1-10.(in Russ.).
- [15] Kim J.S., Ahn S.N., Kim C.K., Shim C.K. Screening of rice blast resistance genes from aromatic rice germplasms with SNP markers. //Plant Pathol. J. 2010. – Vol.26. – P.70-79.
- [16] Wu J.H., Jiang J.S., Chen H.L., Wang S.P. Fine mapping of rice blast resistance gene Pi2(t) // ActaAgronicaSinica. – 2002. – Vol. 28. – P.505-509.
- [17] Dellaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA minipreparation: version II. // Plant. Mol Biol. Rep. 1983. – Vol.1. – P.19-21.
- [18] Hauashi K., Hashimoto N., Daigen M., Ashikawa I. Development of PC-based SNP markers for rice blast resistance genes at the Piz locus // Theoretical and Applied Genetics. – 2004. – Vol.108. – P.1212-1220.
- [19] Liu G., Lu G., Zeng L., Wang G.L. Two broad-spectrum blast resistance genes Pi9 (t) and Pi2 (t), are physically linked on rice chromosome 6 // Mol.Genet.Genomics. – 2002. – Vol. 267. – P.472-480.
- [20] Mackill D.J., Bonman J.M. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice // Phytopathology. – 1992. – Vol. 82. – P.746-749.
- [21] Wu J.H., Jiang J.S., Chen H.L., Wang S.P. Fine mapping of rice blast resistance gene Pi2(t) // ActaAgronicaSinica. – 2002. – Vol. 28. – P.505-509.

ПИРИКУЛЯРИОЗФА КҮРİŞТІҢ ТӨЗІМДІЛІК КӨЗДЕРІН ЖІКТЕУ

A. С. Рсалиев, Ж. У. Пахратдинова, Н. Т. Амирханова, Г. Ш. Ысқақова

ҚР БФМ ФК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК, Гвардейск, Қазақстан

Тірек сөздер: күріш, пирикуляриоз, изолят, төзімділік гендері, молекулалық маркерлер.

Аннотация. Соңғы уақыттары Қазақстанның күріш өндіретін аймактарында күріштің ең қауіпті және зиянды пирикуляриоз ауруы анықталып жүр. Фитопатологиялық және молекулалық әдістерді пайдалана отырып күріш сорттары мен линияларының пирикуляриозға төзімділігі бағаланды. Жасанды індег аясында ауруға төзімділік және қабылдағыштық деңгейі бойынша күріштің селекциялық материалдары жіктелінді. Пирикуляриозға көлденең және тік төзімділікті жоғарғы деңгейде қамтамасыз ететін күріштің 30 жуық сорттары мен линиялары анықталды. Молекулалық скрининг жүргізу нәтижесінде күріштің 8 үлгісінен Pi-ta төзімділік гені, 5 үлгісінен Pi-z және 8 үлгісінен Pi-2 гені табылды. Анықталған құрамында Pi-гені бар күріш сорттары тек Қазақстанда ғана емес әлемнің басқа да елдерінде пирикуляриоз қоздырышына төзім-ділік көздері болып табылады. Ауруға төзімділігі тиімділігі жоғары Pi-гендермен қорғалған күріш сорттарын селекциялық жұмыстарға колдану пирикуляриоз ауруына төзімді күріштің жаңа сорттарын шығаруға мүмкіндік береді.

Поступила 31.07.2015 г.