

**КОНЦЕПЦІЯ
СТВОРЕННЯ СТІЙКОГО
ДО ЗБУДНИКА ПІРИКУЛЯРІОЗУ
(*PYRICULARIA ORYZAE* BR. & CAV.)
СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ РИСУ
(*ORYZA SATIVA* L.)
ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ
СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ**

Методичні рекомендації

УДК 631.527:633.181.1
K65

Автори:

Д. В. Шпак, к. с.-г. н., с. н. с., зав. відділу, (Інституту рису);
І. С. Замбріборщ, к. б. н., зав. лаб., (СГІ–НЦНС);
О. Л. Шестопап, к. б. н., пров. наук. співр.; (СГІ–НЦНС)
Д. П. Паламарчук, к. с.-г. н., (Інститут рису);
Т. М. Шпак, с. н. с., к. с.-г. н. (Інститут рису);
Г. В. Мельніченко, наук. співроб. (Інститут рису);
М. С. Чекалова, молод. наук. співроб. (СГІ–НЦНС);
О. А. Афіногенов, молод. наук. співроб. (СГІ–НЦНС)

Рецензенти:

В. В. Дудченко, д. е. н., к. с.-г. н., член-кор. НААН України, директор Інституту рису;
С. Г. Вожегов, д. с.-г. н., с. н. с., вчений секретар вченої ради Інституту рису;
О. В. Галаєв, к. б. н., пров. н. співроб. відділу заг. та мол. генетики СГІ–НЦНС

Відповідальний за випуск **В. М. Соколов**, директор СГІ–НЦНС, член-кор. НААН України

Розглянуто і затверджено до друку вченою радою Селекційно-генетичного інституту — Національного центру насіннезнавства та сортовивчення (протокол № 11 від 22 жовтня 2021 р.)

К65 Концепція створення стійкого до збудника пірикуляріозу (*Pyricularia oryzae* Br. & Cav.) селекційного матеріалу рису (*Oryza sativa* L.) із застосуванням сучасних біотехнологій : методичні рекомендації / авт.: Д. В. Шпак, І. С. Замбріборщ, О. Л. Шестопап [та ін.] ; відп. за вип. В. М. Соколов ; СГІ–НЦНС ; Ін-т рису НААН України. — Одеса : Астропринт, 2022. — 24 с.

Обґрунтовано стратегію селекції рису посівного на стійкість до збудника пірикуляріозу. Підтверджено ефективність застосування двох біотехнологічних методів з метою скорочення строків та зменшення затрат при створенні стійкого селекційного матеріалу.

Матеріали розраховані на фахівців у області біотехнології, генетики та селекції рослин.

УДК 631.527:633.181.1

© Селекційно-генетичний інститут —
Національний центр насіннезнавства
та сортовивчення (СГІ–НЦНС), 2022
© Інститут рису НААН України, 2022

ЗМІСТ

ВСТУП	4
1. ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ ПРО ЗБУДНИК ПІРИКУЛЯРІОЗУ (<i>Pyricularia oryzae</i> Br. & Cav.) ТА ЙОГО ШКОДОЧИННІСТЬ	5
2. ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ	9
3. СТВОРЕННЯ ТА ДОРОЩУВАННЯ ПОДВОСНИХ ГАПЛОЇДІВ РИСУ	13
4. ВИВЧЕННЯ СТВОРЕНОГО СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ РИСУ В ПОЛЬОВИХ УМОВАХ	15
5. СТРАТЕГІЯ СЕЛЕКЦІЇ НА СТІЙКІСТЬ ДО ЗБУДНИКА ПІРИКУЛЯРІОЗУ З ЗАСТОСУВАННЯМ СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ	20
ВИСНОВКИ	22
СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ	23

ВСТУП

За літературними даними, рис може уражуватися 74 хворобами, у тому числі: 24 – вірусними та мікоплазматичними, 6 – бактеріальними, 37 – грибковими, 6 – нематодними і 4 – фізіологічними. З іншого боку, найбільш поширеною хворобою рису в умовах Півдня України є пірикуляріоз, збудником якого є недосконалий гриб *Pyricularia oryzae* Br. & Cav.

Пірикуляріоз призводить до суттєвих втрат врожаю майже у всіх країнах – виробниках рису, які в середньому коливаються в межах від 5 до 15%. Збудником захворювання уражуються всі надземні органи у всі фази розвитку рослини, причому ураження відбувається однією й тією ж формою гриба.

Розв'язання проблеми втрати стійкості сортами рослин потребує знання генетичного контролю стійкості, шляхів та швидкості патогенності збудників та їхньої взаємодії з типами генетичного контролю стійкості, а також темпів спрямованого добору рослин-господарів та його тиску на популяцію патогенів [1].

З метою подолання цього явища доцільним є розширення спектру генів, які контролюють стійкість (пірамідкування) в одному генотипі, що можливо лише з застосуванням сучасних біотехнологій.

Поеднання таких біотехнологічних методів, як ДНК-типуння та культури пиляків та їх використання у традиційній селекційній практиці дасть можливість значно підвищити її ефективність та зменшити витрати часу та матеріальних ресурсів на створення нових сортів.

1. ЗАГАЛЬНІ ВІДОМОСТІ ПРО ЗБУДНИК ПІРИКУЛЯРІОЗУ (*PYRICULARIA ORYZAE* BR. & CAV.) ТА ЙОГО ШКОДОЧИННІСТЬ

Збудником *пірикуляріозу* є недосконалий (Deuteromycetes) гриб *Pyricularia oryzae* Cav, що належить до порядку Hyphomycetales. Поширений та найшкідливіший у всіх зонах рисівництва, втрати урожаю зерна рису внаслідок ураження рослин цим збудником можуть сягати і до 25 %, а в епіфітотійні роки – 60 % і більше [2].

У своєму розвитку збудник має вегетативну стадію у формі міцелію та продуктивну у формі конідій, які утворюються на конідієносцях міцелію. Міцелій багатоклітинний, септований, безкольоровий або димчастий, занурений, знаходиться у міжклітинному просторі тканини рослин. Конідієносці прямі з 2-4 перегородками, виступають на поверхню листка через продихи пучками або по одному. Вони циліндричні, близько основи розширені, а доверху мають зубовидні виступи на яких формуються конідії. Конідії утворюються на вершині конідієносця поодинокі або ступінчасто по кілька штук (до 20) на коротких ніжках. Конідії грушовидні, біля основи округлі, доверху звужені, мають 1-2 перегородки, майже прозорі або блідо-оливкові [3].

Під час вегетації гриб поширюється конідіями. Розповсюдженню хвороби сприяє вітер, який переміщує спори на значні відстані. Але основна маса конідій (70 %) знаходиться у травостой [4].

Зараження рослин рису може відбуватися впродовж всього вегетаційного періоду. За оптимальних умов конідія проростає, ростова трубка формує апресорій, який проростає у інфекційну гіфу та проникає через епідерміс або продихи всередину тканини рослин [5].

Розвиток хвороби спостерігається упродовж всього періоду вегетації та уражує всі надземні органи – листки, піхви листків, стебла, стеблові вузли та волоті. Тому виділяють листову, стеблову, вузлову та волотеву форми прояву пірикуляріозу. Патоген призводить до відмирання уражених тканин.

В результаті сильного ураження листки та пагони відмирають, при ураженні вузлів стебло нахиляється та переломлюється, в результаті ураження стебла нижче волоті остання всихає, що призводить до втрат врожаю.

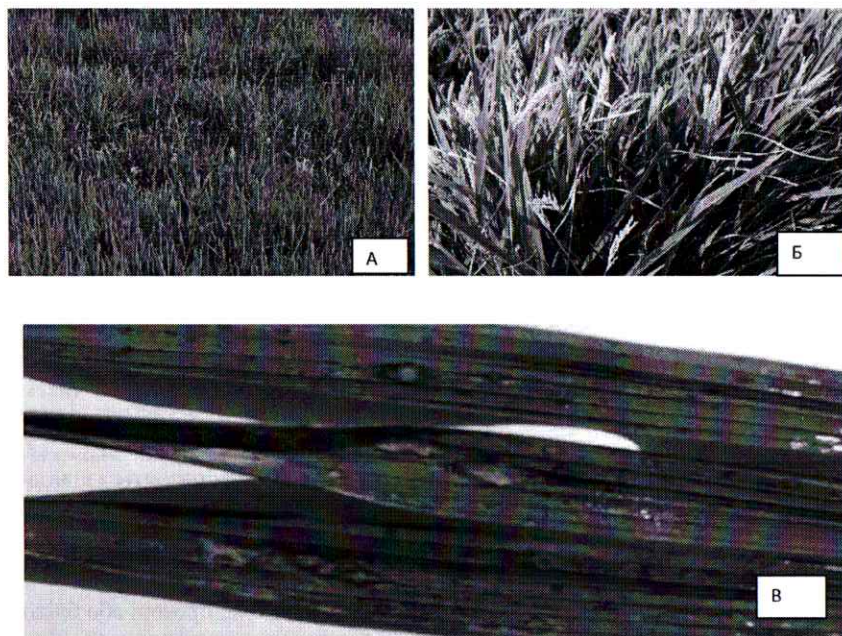


Рис. 1. Ураження рису збудником пірикуляріозу (*Pyricularia oryzae* Br. & Cav.)
А, Б – листові форми; В – вузлова та волотева форми

Первинне зараження рослин відбувається у фазу кущіння в період змикання травостою. Спочатку уражаються листки, потім з розвитком рослин – стебла, вузли та волоті. На листках утворюються некрози у вигляді багаточисленних сірих плям, які розростаються та подовжуються вздовж жилок листка. Типові плями мають еліпсоподібну форму з сірувато-бурим центром та темно-коричневою облямівкою. Некрози поступово зливаються, листки засихають та відмирають. На піхвах листка плями бурі, розмивчасті. На стеблах та вузлах утворюються бурі, вдавлені плями, які поступово чорніють. Вони викликають частковий, або повний надлом стебла в місці ураження вузла. У волоті інфікуються вісь, гілочки, колоски та зернівка. На

вісі та гілочках з'являються плями коричневого або чорного кольору, повністю або частково охоплюючи їх, при цьому зупиняється надходження поживних речовин, розвивається пустозерність. Волоті з ураженою віссю часто надломлюються. На зернівках розвиваються бурі очкові плями, часто насіння залишається шуплим.

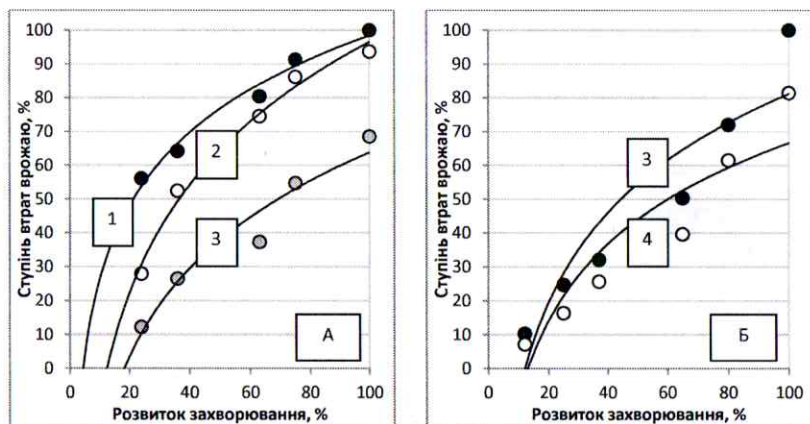
Зимує гриб у формі грибниці на рослинних рештках, стерні, соломі, насінні, дикоростучих злаках та інших бур'янах рисових чеків. Усього збудник уражує до 30 дикорослих та культурних злаків (овес, пшениця, кукурудза, ячмінь та ін.). Особливо сильно розвивається гриб на червонозерних формах рису та тростині звичайній, останні мають величезні скупчення близько зрошувальних каналів, в заболочених місцях [5].

Під дією інших мікроорганізмів патоген у ґрунті гине, але добре перезимовує на його поверхні [3].

Необхідний для зараження період, значною мірою залежить від кліматичних умов. Оптимальними є умови, коли тривалість росяного періоду становить 10-12 годин, а температура повітря +20-26°C. Важливим абіотичним фактором, який визначає розвиток епіфітотії, є висока відносна вологість повітря, рясні тривалі роси, часті короткотривалі опади, тумани, хмарна погода. Такі умови підвищують сприйнятливість рослин до хвороби та сприяють процесу інфікування [5].

Спороутворення на інфекційних плямах зазвичай починається через 6 діб після зараження. На одній типовій плямі на листку за 1 добу утворюється до 6 тисяч та більше конідій. Репродукційна здатність плями на листках зберігається до 20 діб. За сезон патоген проходить у своєму розвитку близько 10 генерацій [3].

Ураження збудником пірикуляріозу спричиняє досить суттєві втрати врожаю зерна рису та його якості (рис. 2).



Залежність втрат врожаю рису від ступня та строків ураження рослин рису збудником пірикуляріозу (*Pyricularia oryzae* Br. & Cav.)
1 – кушіння; 2 – вихід у трубку; 3 – цвітіння; 4 – молочна стиглість; А – листові форми; Б – вузлова та волотева форми.

Доведено, що у роки з епіфітотійним розвитком захворювання без належного захисту посівів втрати врожаю можуть подекуди досягати 100%.

Експериментальні дані свідчать, що розвиток хвороби залежить від багатьох факторів, насамперед від метеорологічних факторів (діапазону коливання добових температур повітря, що сприяє утворенню роси на листі та його вологості) у вегетаційний період, фаз розвитку рису у момент ураження тощо.

Зокрема, найбільша шкодочинність збудника відмічена при ураженні у більш ранні строки росту та розвитку рослин рису (фаза кушіння). У міру наближення до фази досягання шкодочинність пірикуляріозу істотно знижується, що пов'язано з специфікою ураження: гриб здебільшого уражує «молоді» тканини рослин, і пізні фази розвитку - це меристеми у вузлах стебла.

Слід зауважити більш високу шкодочинність листової форми у порівнянні з вузловою та волотевою.

2. ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ

Добір вихідного матеріалу для селекції рису на стійкість до пірикуляріозу повинен включати наступні етапи:

- ДНК-типуювання рослинних зразків з метою виявлення донорів генів стійкості (у нашому випадку Pi-b та Pi-ta);
- оцінку рівня стійкості вихідного матеріалу до збудника пірикуляріозу;
- вивчення вихідного матеріалу рису за рівнем виявлення корисних ознак та властивостей.

Фахівцями СГІ-НЦНС було проведене ДНК-маркування колекційного матеріалу рису за генами стійкості до збудника пірикуляріозу Pi-b та Pi-ta, які є ефективними у нашому регіоні (табл. 1).

Таблиця 1 – Результати ДНК-типуювання колекційних зразків рису за генами стійкості до пірикуляріозу

Домінантний ген стійкості	
Pi-b	Pi-ta
ВНІР-546, 97-В, IRBL-21, Brazos, Labtlle	Малиш, Мутант-4207-75, ПФ-4186, УІР-3470, Chise Bind, Delfino, Агат, Антей, Віконт, Дебют, Онтаріо, Пам'яті Гічка, Преміум, Престиж, Серпневий, Україна-96, Янтарний

Було виявлено, що носіями гену Pi-b є лише 3% з вивчених колекційних форм (ВНІР-546, 97-В, IRBL-21). Значно поширенішими є зразки, які мають ген Pi-ta (16,8%), серед яких переважають сорти вітчизняної селекції (Агат, Антей, Віконт, Дебют, Онтаріо, Пам'яті Гічка, Преміум, Престиж, Серпневий, Україна-96, Янтарний).

Слід зазначити, що носії гена Pi-b показали високу стійкість до збудника пірикуляріозу (табл. 2).

Зазначимо також, що більшість вітчизняних сортів рису з геном Pi-ta, були віднесені до сприйнятливих, крім УІР-3470, Delfino, Преміум,

Онтаріо, які у силу своїх фізіологічних та морфологічних властивостей виявилися помірностійкими.

Таблиця 2 – Результати оцінки стійкості зразків рису до збудника пірикуляріозу в інфекційному розсаднику

Тип реакції сорту	
стійкий та помірностійкий	сприйнятливий
ВНІР-546, 97-В, ІРБЛ-21, УІР-3470, Delfino, Преміум, Онтаріо, Brazos, Labtile	Малиш, Мутант-4207-75, ПФ-4186, Chise Bind, Агат, Антей, Віконт, Дебют, Пам'яті Гічка, Престиж, Серпневий, Україна-96, Янтарний

Оцінка стійкості колекційного матеріалу рису до збудника пірикуляріозу проводилася в контрольованих умовах інфекційного розсадника, де створюються максимально сприятливі умови для розвитку збудника пірикуляріозу (висока вологість повітря та наявність роси на листі рису за температури близько 27°C) (рис. 3).

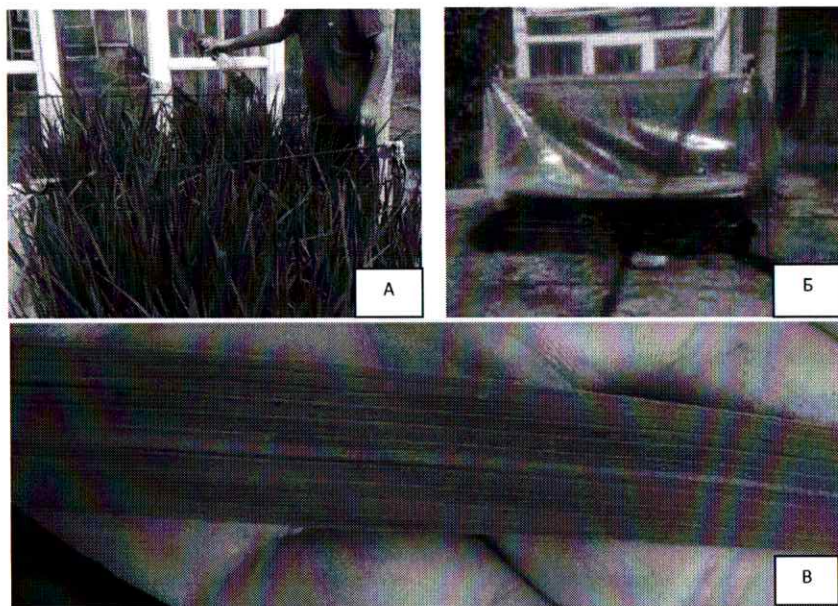


Рис. 3. Інфекційний розсадник

А – обробка рису суспензією спор збудника пірикуляріозу; Б – загальний вигляд; В – первинне ураження листка рису

Для створення відповідних умов рослини рису у інфекційному розсаднику протягом доби 2-3 рази поливають, що сприяє утворенню роси та знижує температуру повітря у пікові періоди.

Наявність інфекції забезпечується за рахунок обприскування зразків рису у інфекційному розсаднику водною суспензією спор збудника пірикуляріозу, які збирають у польових умовах або заготовлюються заздалегідь у минулі роки. Інфекція добре зберігається на уражених вузлах стебел рису у сухих та прохолодних умовах.

Оцінка стійкості селекційного матеріалу рису до збудника пірикуляріозу здійснюється за 9-бальною шкалою згідно загальноприйнятої методики (табл. 3) [6].

Таблиця 3 – Уніфікована шкала оцінювання стійкості сортозразків рису проти пірикуляріозу за ураженістю рослин

Шкала ураження		Бал стійкості, ступінь стійкості	
≤ 1%	Ураження відсутнє	9-8	Високостійкі
2-5%	Слабке ураження	6-7	Стійкі
6-10%	Типові плями	5	Помірностійкі
11-25%	Типові плями	4	Сприйнятливі
26-75%	Сильно уражені	3-2	Нестійкі
≥ 75%	Дуже сильно уражені	0	Нестійкі
Тип реакції сортів		9, 8, 7 – стійкий	
		6, 5 – проміжний	
		4, 3, 2, 1, 0 – сприйнятливий	

Обліки ураженості сортозразків рису вузловою та волотевою формами прояву пірикуляріозу здійснюють у фазу молочно-воскової та повної стиглості. Дані щодо ступеню ураженості листків, волотей та кількості інфікованих рослин використовуються для підрахунку інтенсивності розвитку захворювання.

Вивчення вихідного матеріалу рису за рівнем виявлення корисних ознак та властивостей (табл. 4) показало, що носії гена Pi-b у більшості

випадків характеризуються порівняно невисокими показниками продуктивності, є більш низькорослими та мають довгу волоть.

Таблиця 4 – Ефекти генів стійкості до пірикуляріозу на виявлення господарсько корисних ознак у вихідного матеріалу рису

Ознака	Рівень виявлення ознаки	
	Pi-b	Pi-ta
Тривалість періоду вегетації	висока	середня
Висота рослини	низька	висока
Довжина головної волоті	висока	середня
Число зерен у волоті	низьке	високе
Продуктивність головної волоті	низька	висока
Маса 1000 зерен	середня	висока
Пустозерність	висока	низька
Щільність волоті	низька	Висока
Урожайність	низька	висока

Очевидно, що добір пар для схрещувань необхідно проводити з врахуванням зазначених особливостей для подолання негативних ефектів гена Pi-b, тому для гібридизації оптимальним буде використання у якості однієї з батьківських форм вітчизняних сортів рису, які є донорами високих показників продуктивності, з одним із носіїв гена Pi-b.

У цьому випадку ефекти згаданого гена на виявлення елементів продуктивності залежатимуть від властивостей окремих комбінацій схрещування, тобто фактично від батьківських компонентів, а у поколіннях, що розщеплюються, можуть виявитися форми з обома генами та прийнятною продуктивністю.

При плануванні гібридизації слід дотримуватися певних принципів, які головним чином базуються на використанні у якості материнської форми селекційного матеріалу з рецесивними генами (остистість, карликовість, висока якість зерна, стійкість до пірикуляріозу, пізньостиглість тощо) [7]. Це дасть можливість у подальшому виявити серед першого покоління гібридів рослини рису, які є нащадками самозапилення.

3. СТВОРЕННЯ ТА ДОРОЩУВАННЯ ПОДВОЄНИХ ГАПЛОЇДІВ РИСУ

Створення подвоєних гаплоїдів рису проводилося у лабораторії культури тканин СГІ – НЦНС згідно розробленої фахівцями лабораторії методики [8]. Після адаптації створені зелені рослини – регенеранти передавалися для подальшого дорощування та включення в селекційний процес в Інститут рису НААН.

Добір матеріалу рису для культури *in vitro* здійснюється в польових умовах з гібридних популяцій рису другого – третього покоління у період, коли більша частина мікроспор у пиляках досягає фази вакуолізації. У цей період прапорцевий листок виходить з піхви на 1,5-2, см, що відповідає 40-вій стадії розвитку рису за класифікатором BBSH [9].

Слід мати на увазі, що при доборі матеріалу для культури пиляків слід надавати пріоритет популяціям, у яких виявляється висока кількість корисних ознак, що забезпечить і високу вірогідність отримання цінного селекційного матеріалу у майбутньому.

Вивчення характеру успадкування та мінливості кількісних ознак у гібридів рису, які використані для добору (табл. 1.3) показало, що у другому й третьому поколіннях гібридів рису за ознаками з високим рівнем фенотипової варіації (число зерен у волоті, продуктивність волоті) спостерігався високий або близький до нього рівень мінливості – $V_{ph}=18,41-21,11\%$.

Таблиця 5 – Характер успадкування та мінливості кількісних ознак у гібридів рису

Ознака	F ₂				F ₃			
	$\bar{x}_{cp} \pm Sx$	hp	H ²	Vph	$\bar{x}_{cp} \pm Sx$	hp	H ²	Vph
Висота рослини, см	102,63	0,76	0,45	6,39	104,42	0,31	0,51	7,18
Довжина волоті, см	17,73	3,26	0,24	8,38	18,29	1,42	0,36	6,39
Число зерен у волоті, шт.	179,62	-0,93	0,26	19,13	201,54	0,15	0,11	21,11
Продуктивність волоті, г	5,26	-1,36	0,12	18,41	5,59	0,01	0,05	20,14
Маса 1000 зерен, г	29,62	0,42	0,24	10,02	29,15	0,29	0,21	9,81

За іншими ознаками фенотипова мінливість була на низькому рівні у обох поколіннях гібридів ($V_{ph}=6,39-10,02\%$).

Ступінь фенотипового домінування ознак закономірно зменшується від F_2 до F_3 від $h_r=-1,36...3,26$ до $h_r=0,01...1,42$ у зв'язку з падінням частки гетерозигот у структурі гібридних популяцій. Виняток складають, знову ж таки, ознаки з високим рівнем модифікаційної мінливості – багатозерності та продуктивності волоті.

Але взагалі у окремих гібридних популяцій ці показники коливаються у доволі широких межах: від депресії до гетерозису, в залежності від властивостей батьківських форм.

Зовнішній вигляд стерильних та фертильних рослин–регенерантів наведено на рис. 4.

Для стерильних дигаплоїдів характерні значні вкорочення міжвузлів при збереженні їхньої кількості, внаслідок чого суттєво знижується висота рослин (до 25-30 см), висока кушистість та волоть з невеликою кількістю стерильних колосків, які відмирають ще до кінця вегетації.

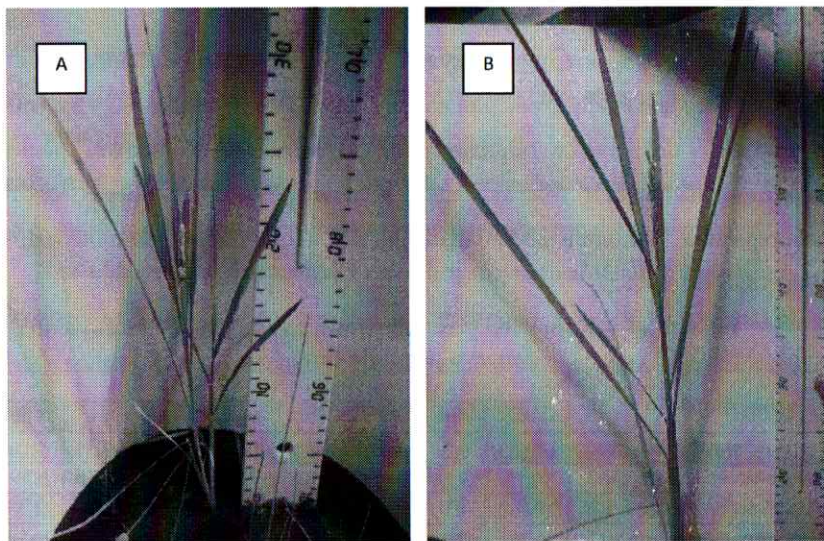


Рис. 4. Зовнішній вигляд стерильної (А) та фертильної (В) дигаплоїдних рослин

Дорошування регенерантів рису здійснюється в умовах кліматичної камери за тривалості світлового дня 13 годин, температури повітря $+24-25^{\circ}\text{C}$, освітлення близько 7 тис. лк.

Дані про результати дорошування в умовах кліматичної камери, отримані від лабораторії культури тканин СГІ – НЦНС НААН, свідчать, що середній відсоток виживання регенерантів склав 47,0% з коливаннями у окремих генотипів у межах 44,0-50,0%. При цьому відсоток фертильних форм серед останніх, у середньому становив 47,3% з коливаннями у окремих генотипів у межах 41,7-45,5%.

4. ВИВЧЕННЯ СТВОРЕНОГО СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ РИСУ В ПОЛЬОВИХ УМОВАХ

Вивчення селекційного матеріалу в польових умовах включає аналіз його корисних ознак та властивостей у порівнянні зі стандартними сортами та бракування малоцінних зразків. Кращі форми передаються до селекційних розсадників більш високого рівня. Крім того, доцільно проводити моніторинг створеного матеріалу на стійкість до збудника пірикуляріозу протягом вивчення.

Зокрема, для популяції IRBL-21 / Преміям (табл. 6) для рослин, що є носіями домінантного гена $Pi-b$ в гомозиготному стані притаманна середня групова висота рослини (94,0 см), висока довжина волоті (17,2 см проти 16,2-16,4 см у гетерозигот та рецесивних гомозигот) і її багатозерність (111,0 шт. проти 94,8-99,1 шт. відповідно), висока продуктивність волоті (2,4 г) та дрібне зерно (21,8 г).

Для популяції 97-B / Віконт характерними є найбільш високі показники вивчених ознак, які на 1,9-20,6% переважають значення інших груп генотипів рису.

Генотипи з домінантним геном $Pi-b$ у популяції IRBL-21 / Віконт є більш низькорослими (88,8 см), мають порівняно довгу волоть (17,7 см), проте поступаються за числом зерен у волоті (81,8 шт.), її продуктивності (1,9 г проти 2,0-2,1 г) та крупності зерна (23,0 г).

Таблиця 6 – Виявлення елементів продуктивності у генотипів F₃ з геном стійкості Pi-b

Генотип	Стан гена Pi-b	Ознака ($\bar{x}$)				
		Висота рослини, см	довжина головної волоті, см	число зерен у волоті, шт.	продуктивність головної волоті, г	маса 1000 зерен, г
IRBL-21 / Преміум	R	94,0	17,2	111,0	2,4	21,8
	H	96,0	16,4	94,8	2,2	23,1
	S	89,5	16,2	99,1	2,5	26,0
	Sx	1,6	0,2	4,4	0,1	0,5
97-B / Віконт	R	61,5	17,1	79,3	2,2	26,8
	H	67,3	16,2	75,1	1,9	25,8
	S	69,4	16,8	68,5	1,7	25,9
	Sx	1,2	0,2	3,0	0,1	0,4
IRBL-21 / Віконт	R	88,8	17,7	81,8	1,9	23,0
	H	91,8	16,4	83,6	2,0	23,8
	S	96,2	16,6	90,3	2,1	23,5
	Sx	1,8	0,3	3,4	0,1	0,4
IRBL-21 / Онтаріо	R	—	—	—	—	—
	H	84,0	17,7	95,7	2,7	28,1
	S	79,3	17,4	96,7	2,7	28,3
	Sx	0,9	0,2	3,1	0,1	0,2

У популяції IRBL-21 / Онтаріо генотипів з домінантним геном Pi-b у домінантному стані виявлено не було. А взагалі ефекти згаданого гена на виявлення елементів продуктивності залежать від властивостей окремих комбінацій схрещування, тобто фактично від батьківських компонентів.

Нижче наведена інформація про рівень виявлення морфологічних ознак у дослідженого селекційного матеріалу рису (табл. 7).

Таблиця 7 – Виявлення морфологічних ознак у стійких до збудника пірикуляріозу генотипів рису

Походження	Виявлення ознаки ($\bar{x}$)		
	висота рослини, см	продуктивна кущистість, шт.	довжина головної волоті, см
Віконт (St)	95	4	19,5
225/1YIP-9743 / K-01474	83	26	19,4
236/2 Labelle / Малиш	95	17	21,2
236/9 Labelle / Малиш	77	15	19,0
236/11 Labelle / Малиш	73	8	18,1
236/12 Labelle / Малиш	84	7	19,0
236/16 Labelle / Малиш	79	17	17,5
240/3 Labelle / YIP-3470	86	16	24,2
242/1 Brazos / Малиш	92	10	21,1
Середнє	83,63	14,50	19,94
Sx	2,62	2,18	0,76

Згідно отриманих даних, майже всі створені лінії (крім 236/2 Labelle / Малиш) характеризувалися короткостебловістю у порівнянні зі стандартом (73-92 см проти 95 см відповідно), а також дуже високим рівнем кущистості (7-26 пагонів проти 4 у стандарті). Це явище частково зумовлене способом вирощування ліній в інфекційному розсаднику (необхідна висока площа живлення, яка суттєво відрізняється від виробничих показників) для інтенсивного росту листової поверхні.

За довжиною головної волоті кращими виявилися зразки 225/1YIP-9743 / K-01474, 240/3 Labelle / YIP-3470 та 242/1 Brazos / Малиш (21,1-24,2 см проти 19,5 см у стандарта). Крім того, нами були вивчені елементи продуктивності досліджуваних форм рису на фоні сильного ураження збудником пірикуляріозу (табл. 8).

Високим числом зерен у волоті у порівнянні зі стандартом характеризувалися всі вивчені лінії (169-330 зерен проти 147 у стандарті).

Таблиця 8 – Виявлення елементів продуктивності у стійких до збудника пірикуляріозу генотипів рису (2020 р.)

Походження	Виявлення ознаки ($\bar{x}$)				
	Число зерен у волоті, шт.	Пустозерність волоті, %	Маса 1000 зерен, г	Продуктивність, г	
				головної волоті	рослини
Віконт (St)	147	9,82	30,95	4,55	10,31
225/1 УІР-9743 / К-01474	230	19,01	25,43	5,85	60,42
236/2 Labelle / Малиш	330	13,61	26,33	8,69	41,50
236/9 Labelle / Малиш	190	14,22	32,53	6,18	41,38
236/11 Labelle / Малиш	164	11,83	24,33	3,99	9,76
236/12 Labelle / Малиш	178	15,04	25,79	4,59	13,95
236/16 Labelle / Малиш	177	11,28	28,14	4,98	32,78
240/3 Labelle / УІР-3470	220	15,87	24,18	5,32	34,27
242/1 Brazos / Малиш	169	20,28	28,82	4,87	21,80
Середнє	207,25	15,14	26,94	5,56	31,98
Sx	19,43	1,13	0,99	0,51	5,85

Однак за ознакою пустозерності головної волоті виділилися лінії які суттєво переважали стандарт за цим показником (9,82% (стандарт) проти 11,28-20,28% відповідно).

За ознакою маса 1000 зерен кращим виявився зразок 236/9 Labelle / Малиш, який переважав стандарт (32,53 г проти 30,95 г у сорту Віконт).

Продуктивність головної волоті виявилася високою у ліній 225/1 УІР-9743 / К-01474, 236/2 Labelle / Малиш, 236/9 Labelle / Малиш та 240/3 Labelle / УІР-3470 (5,32-8,69 г проти 4,55 г у стандарта).

Слід зазначити, що більшість вивчених зразків характеризувалися дуже високими параметрами продуктивності рослини (21,80-60,42 г проти 10,31 г у сорту Віконт), що зумовлено високими показниками продуктивної кущистості.

За комплексом ознак продуктивності слід виділити лінії 236/2 Labelle / Малиш та 236/9 Labelle / Малиш, які мали перевагу над стандартним сортом за більшістю досліджених показників.

Вивченні кореляційні взаємозв'язки стійкості до патогена з іншими кількісними ознаками у ліній-регенерантів рису (рис. 5).

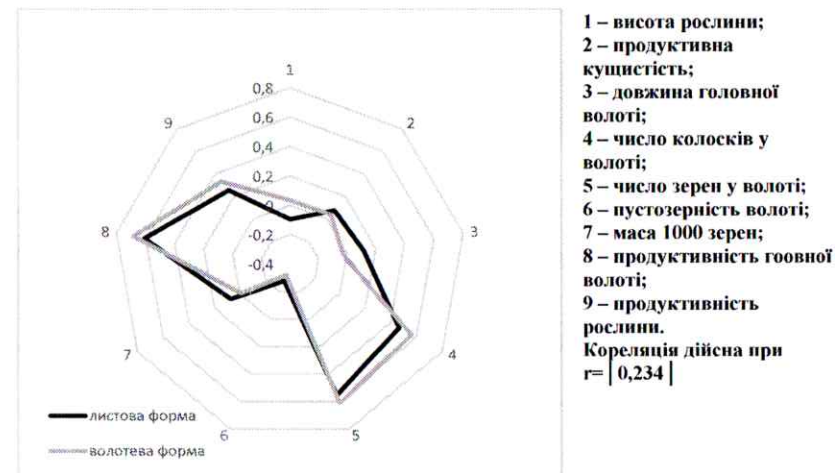


Рис. 5. Кореляційні зв'язки стійкості до збудника пірикуляріозу з кількісними ознаками у рису (інфекційний розсадник)

Згідно отриманих даних, суттєвий прямий кореляційний зв'язок було отримано між стійкістю до збудника пірикуляріозу та числом колосків і зерен у волоті, а також її продуктивністю й продуктивністю рослини в цілому ($r=0,257...0,685$). Характерно, що сильне ураження рослин призводить до дуже високого рівня пустозерності: у даному випадку зафіксовано істотний рівень кореляції зворотного напрямку ($r=-0,320...-0,278$). Це стосується як листової, так і вузлової й волотевої форм прояву хвороби.

За результатами вивчення для реєстрації як зразок генофонду рослин України передано лінії рису УІР-5742 (запит №004781, № Національного каталогу 0700845 від 27.07.2020 р., автори: Замбріборщ І.С., Шпак Д.В., Шпак Т.М., Шестопал О.Л., Чекалова М.С.) та УІР-5741 (запит №004782, № Національного каталогу 0700846 від 27.07.2020 р., автори: Замбріборщ І.С.,

Шпак Д.В., Шпак Т.М., Шестопад О.Л., Чекалова М.С.), створені методом культури пиляків зі стійкістю до збудника пірикуляріозу на рівні 7-9 балів та високими показниками господарсько корисних ознак.

5. СТРАТЕГІЯ СЕЛЕКЦІЇ НА СТІЙКІСТЬ ДО ЗБУДНИКА ПІРИКУЛЯРІОЗУ З ВИКОРИСТАННЯМ СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ

Для створення стійкого до збудника пірикуляріозу селекційного матеріалу рису рекомендуємо застосовувати наведену нижче схему селекційного процесу (рис. 6).

Введення у традиційну селекцію сучасних біотехнологічних методів дасть суттєві переваги.

По-перше, це можливість точно ідентифікувати форми рису, які є носіями комплексу генів стійкості до патогена Pi-b та Pi-ta шляхом ДНК-типуювання рослинних зразків.

По-друге, зважаючи на низьку ефективність селекційних доборів, що базуються головним чином на досвіді та інтуїції селекціонера, особливо на початкових етапах селекції (ефективність добору у селекційному розсаднику становить близько 10%, у контрольному – 40-45%) через високу гетерозиготність вихідного матеріалу, культура пиляків дає можливість значно скоротити витрати часу та зусиль на вирощування малочисного матеріалу рису.

Послання двох біотехнологічних методів, на нашу думку, дозволить значно скоротити строки та зменшити витрати на створення стійких сортів.



Рис. 6. Стратегія селекції на стійкість до збудника пірикуляріозу (*Pyricularia oryzae* Br. & Cav.) з застосуванням сучасних біотехнологій

ВИСНОВКИ

1. У роки з епіфітотійним розвитком захворювання без належного захисту посівів втрати врожаю можуть подекуди досягати 100%. Розвиток хвороби залежить від багатьох факторів, насамперед від перебігу метеорологічних факторів (діапазону коливання добових температур повітря та його вологості) у вегетаційний період, фаз розвитку рису у момент ураження тощо.

2. Оцінку вихідного матеріалу рису за стійкістю до збудника пірикуляріозу необхідно проводити в інфекційному розсаднику при штучному зараженні. Носії гена Pi-b у більшості випадків характеризуються порівняно невисокими показниками продуктивності, є більш низькорослими та мають довгу волоть, тому необхідно їх схрещувати з вітчизняними сортами для отримання у поколіннях, що розщеплюються, рекомбінантів з бажаним поєднанням елементів продуктивності.

3. Дані про результати дорошування свідчать, що середній відсоток виживання дигампоїдних ліній першого покоління склав 47,0% з коливаннями у окремих генотипів у межах 44,0-50,0%. При цьому відсоток фертильних форм серед регенерантів, що вижили, у середньому становив 47,3% з коливаннями у окремих генотипів у межах 41,7-45,5%.

4. Високими показниками стійкості (9 балів) характеризувалися лінії 225/1 УІР-9743 / К-01474, 236/2, 236/9, 236/11, 236/12, 236/16 Labelle / Малиш, 240/3 Labelle / УІР-3470, 242/1 Brazos / Малиш.

5. Вивчення кореляційних зв'язків ознаки стійкості до збудника пірикуляріозу показало, що суттєвий прямий кореляційний зв'язок було отримано між стійкістю до патогена та числом колосків і зерен у волоті, а також її продуктивністю й продуктивністю рослини в цілому ($r=0,257\dots0,685$). Характерно, що сильне ураження рослин призводить до дуже високого рівня пустозерності: у даному випадку зафіксовано істотний рівень кореляції зворотного напрямку ($r=-0,320\dots-0,278$).

СПИСОК БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ

1. Лісовий М.П., Лісова Г.М. Причини втрати сортами стійкості до збудників хвороб та шляхи її попередження /Захист і карантини рослин. Вип. 55. – Київ. – 2009. – С. 145-157.

2. Жовтоног І.С. Рис на Україні/ Жовтоног І.С., Іваненко Д.И., Положай В.С. / Под. ред. Жовтонога І.С. – К.: Урожай, 1971. – 180 с.

3. Методические указания по диагностике, учету и оценке вредоносности пирикулярриоза риса / Н.А. Тихонова и др. – М., 1988. – 40 с.

4. Пересипкин В.Ф. Болезни зерновых культур при интенсивных технологиях их возделывания / В.Ф. Пересипкин, С.Л. Тютюрев, Т.С. Баталова. – М.: Агропромиздат, 1991. – 272 с.

5. Методические указания по определению экономических порогов рентабельности защиты риса от пирикулярриоза/ Н.А. Тихонова и др. – М., 1991. – 26 с.

6. Методи оцінки стійкості рису до збудника пірикуляріозу // В.В. Дудченко, Т.В. Дудченко, Д.В. Шпак – Скадовськ, 2015. – 40 с.

7. Орлюк А.П. Методи селекції та насінництва рису: Навчальний посібник. – Херсон: Айлант, 2005. – 172 с.

8. Замбріборщ І.С. Отримання подвоєних гаплоїдів рису посівного (*Oryza ssp.*) методом культури пиляків *in vitro*: методичні рекомендації / І.С. Замбріборщ, О.Л. Шестопал, Д.В. Шпак, М.С. Чекалова; СГІ – НЦНС. – Одеса: Астропринт, 2019. – 12 с.

9. Дудченко В.В. Ідентифікація ознак рису посівного (класифікатор – довідник) / В.В. Дудченко, З.З. Петкевич, Т.М. Шпак, Д.П. Паламарчук, З.С. Воронюк, Т.В. Дудченко, М.І. Рогульчик. – Херсон: ФОП Грінв Д.С., 2013. – 128 с.

Наукове-виробниче видання

**ШПАК Дмитро Васильович
ЗАМБРІБОРЩ Ірина Сергіївна
ШЕСТОПАЛ Оксана Леонідівна
та інші**

**КОНЦЕПЦІЯ
СТВОРЕННЯ СТІЙКОГО
ДО ЗБУДНИКА ПІРИКУЛЯРІОЗУ
(*PYRICULARIA ORYZAE BR. & CAV.*)
СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ РИСУ
(*ORYZA SATIVA L.*)
ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ
СУЧАСНИХ БІОТЕХНОЛОГІЙ**

Методичні рекомендації

Відповідальний за випуск
СОКОЛОВ В'ячеслав Михайлович

Надруковано з готового оригінал-макета

Редактори: *В. Я. Крижанівський, М. Г. Музикант*

Формат 60x84/16. Ум. друк. арк. 1,4.
Тираж 100 прим. Зам. № 250.

Селекційно-генетичний інститут –
національний центр насіннєзнавства та сортовивчення
Україна, 65036, м. Одеса, Овідіопольська дорога, 3
Тел.: (0482) 395-401, 395-427
e-mail: sgi-uaa@ukr.net; <http://www.sgi.od.ua/>

Друкарня видавництва «Астропринт»
65091, м. Одеса, вул. Разумовська, 21
Тел.: (0482) 37-14-25, 33-07-17, (048) 7-855-855
e-mail: astro_print@ukr.net; www.astroprint.ua; www.stranichka.in.ua
Свідцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1373 від 28.05.2003 р.