АННОТАЦИЯ

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD) по образовательной программе
«8D05104 – Генетика» Мынбаевой Даны Омаровны
на тему: «Создание председекционных ресурсов риса с генами устойчивости к пирикуляриозу методом маркерной селекции»

Актуальность исследования. Рис (*Oryza sativa* L.) является жизненно важной культурой для обеспечения продовольственной безопасности человечества, особенно в странах Азии. Значительная часть населения этого региона напрямую или косвенно зависит от потребления риса как основного источника калорий. Пирикуляриоз риса, вызываемый фитопатогенным грибом *Magnaporthe oryzae*, относится к числу трёх наиболее опасных заболеваний, существенно влияющих на урожайность культуры во всём мире. Ежегодно данная болезнь представляет серьёзную угрозу для рисоводства, вызывая снижение урожайности на 10-30% в обычные годы и до 50% и более в условиях сильных эпифитотий. В связи с этим разработка и внедрение устойчивых к пирикуляриозу сортов и гибридных линий является одной из приоритетных задач современной селекции риса. Заболевание развивается в течение всего вегетационного периода и может поражать различные органы растения: проростки, листья, узлы и метёлки в зависимости от времени и места заражения. Наибольшую опасность для производства риса представляет пирикуляриоз метёлки, поскольку он напрямую влияет на формирование и наполненность зерна, что приводит к значительным потерям урожая. Выбор устойчивых типов риса путем тщательного отбора и разумного применения является наиболее экономически эффективным. Традиционные методы борьбы с болезнью, включая применение фунгицидов и агротехнические приёмы, оказываются недостаточно эффективными, особенно в условиях масштабных эпифитотий. Следовательно, произошел сдвиг в сторону идентификации генов, которые придают устойчивость к пирикуляриозу риса (гены R), что необходимо для производства надежных сортов. Более того, использование генетических подходов в защите рисовых культур обеспечивает целевые и устойчивые решения, которые минимизируют использование химикатов и повышают устойчивость культур к различным заболеваниям.

Рис является жизненно важным компонентом питания для значительной части населения мира, включая Казахстан, обеспечивая основные калорийные потребности человека. Однако урожайность этой ключевой сельскохозяйственной культуры снижается под воздействием ряда биотических стрессов. Среди них особую угрозу представляет пирикуляриоз риса, вызываемый преимущественно фитопатогенным грибом *Magnaporthe oryzae*, который в последние годы оказывает значительное влияние на производство и урожайность культуры во всём мире. Актуальность проблемы усиливается в условиях глобальных климатических изменений, способствующих распространению и развитию болезни. За последние

десятилетия был достигнут заметный прогресс в разработке эффективных методов борьбы с пирикуляриозом риса. Тем не менее, большинство существующих мер защиты, включая химический контроль и агротехнические приёмы, обладают ограниченной эффективностью и не обеспечивают долгосрочного решения проблемы, что подчёркивает необходимость создания и внедрения сортов, устойчивых к данному заболеванию. В Казахстане исследования грибковых болезней риса носят эпизодический характер, т.е. недостаточно, и в основном изучают популяции гриба во время вспышек этой болезни. Сотрудниками НИИ проблем биологической безопасности создана коллекция изолятов гриба казахстанской популяции *Magnaporthe oryzae,* дана их морфолого-культуральная характеристика, но агрессивность популяции не изучена из-за отсутствия набора сортов-дифференциаторов.

К сожалению, в Казахстане исследования, посвящённые созданию устойчивых сортов, практически не проводились. Поскольку основная часть сортов, возделываемых в рисоводческих хозяйствах страны, представлена образцами зарубежной селекции, актуальной задачей является разработка устойчивых к пирикуляриозу сортов на основе отечественных высокопродуктивных районированных форм. Данное направление представляет особую значимость для укрепления продовольственной безопасности и развития отечественной селекции риса. В связи с этим, особую ценность приобретает использование современных молекулярно-генетических подходов, в частности маркер-опосредованной селекции, которая позволяет ускорить процесс создания устойчивых форм и повысить эффективность отбора в сочетании с традиционными методами.

Объекты исследования. Объектами исследования являлись 35 сортообразцов риса (*Oryza sativa* L.) отечественной и зарубежной селекции, представленные в коллекции ИББР: 31 – сорта и линий зарубежной селекции из коллекции риса ИББР любезно предоставленные селекционерами из ФНЦ риса (д.б.н. профессор Г.Л. Зеленский) и АНЦ Донской (д.б.н. профессор П.И. Костылев) ; 4 сорта казахстанской селекции – Баканасский, Фатима, Айсауле, Ару созданные учеными ИББР (Таранов О.Н., Аймаков Ж.Ж., Мамонов Л.К., Седловский А.И. Усенбеков Б.Н. и др.) и КазНИИ рисоводства имени И. Жахаева (Бакирулы К.Б., Подольских А.Н., Карлыханов Т.К., Мейрман Г.Т., Байбосынова С.М.).

Предмет исследования. Генетическая устойчивость риса к пирикуляриозу, вызываемому *Magnaporthe oryzae*, а также методы традиционной селекции и гаплоидной технологии и маркер-опосредованной селекции (MAS) для создания гибридов и линий.

Тема диссертации: Создание предселекционных ресурсов риса с генами устойчивости к пирикуляриозу методом маркерной селекции

Цель исследования заключается в оценке сортов риса отечественной и зарубежной селекции из коллекции ИББР на наличие генов, контролирующих признак устойчивости к *Magnaporthe oryzae и* создании

новых устойчивых гибридов и линий с использованием методов традиционной селекции, гаплоидной технологии и MAS.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие **задачи:**

1. Провести анализ и скрининг сортов риса отечественной и зарубежной селекции из коллекции ИББР на наличие генов устойчивости к *Magnaporthe oryzae* на основе молекулярно-генетического подхода с использованием генов *Pi* комплекса;

2. Введение генов устойчивости комплекса *Pi* к пирикуляриозу в казахстанские высокопродуктивные сорта риса и пирамидирование с использованием маркер-опосредованной селекции. Получение генотипов с 2 и более генами *Pi* и внедрение их в селекционной процесс.

3. Провести отбор устойчивых генотипов к патогену с использованием молекулярных SSR-маркеров.

4. Оценить перспективные гибриды на устойчивость к популяции *Magnaporthe oryzae* в условиях инфекционного питомника с использованием искусственного инфекционного фона (фитопатологический тест).

5. Создать дигаплоиды из гибридов поколения F_2 биотехнологическим методом и оценить линии и перспективные гибриды F_2 и F_3 резистентных к патогену по основным хозяйственно ценным признакам.

Методы исследования. Методы выделения ДНК, метод гибридизации с помощью пневмокастрации (трехканальный пневмокастратор), «ТВЕЛЛ» метод опыления растений, полимеразная цепная реакция с SSR маркерами, фитопатологический скрининг, метод гаплоидной технологии, структурный анализ оценки элементов урожая.

Научная новизна. У риса известны большое количество грибных болезней и они в Казахстане изучены недостаточно: не проводились исследования отечественных районированных сортов риса на присутствие генов устойчивости к пирикуляриозу, не создана коллекция сортов-дифференциаторов с различными генами устойчивости к *Magnaporthe oryzae*. Изучение грибных болезней риса носит эпизодический характер, что связано со вспышками этой болезни. Впервые в Казахстане проведены исследования по созданию исходных линий для селекции новых сортов, иммунных к фитопатогену *Magnaporthe oryzae*, с использованием методов маркерной селекции. Новизна заключается в разработке и получении следующих выводов:

Впервые в Казахстане проведены исследования по созданию исходных гибридов, резистетных к фитопатогену *Magnaporthe oryzae*, с использованием методов маркерной селекции.

Отобраны сорта-доноры генов резистентности *Pi-1, Pi-ta, Pi-2, Pi-33, Pi-40, Piz-t* и *Pi-54***,** контролирующих устойчивость к *Magnaporthe oryzae* для интрогрессии и пирамидирования генов в казахстанские сорта риса.

Получены гибридные поколения F_1, F_2 и F_3 на основе введения и пирамидирования генов резистентности к *Magnaporthe oryzae* в высокопродуктивные районированные в Казахстане сорта риса.

Созданы предселекционные материалы, характеризующиеся высокой урожайностью и повышенной резистентностью к казахстанской популяции *Magnaporthe oryzae*.

Практическая значимость. Созданы 27 новые исходные гибриды на основе высокопродуктивных казахстанских районированных сортов (Баканасский, Фатима, Айсауле и Ару), несущие гены устойчивости к пирикуляриозу из них 7 линий являются пирамидированными, то есть содержат комбинации 2-3 генов (*Pi-1, Pi-33* и *Pi-ta*) устойчивости. Получена дигаплоидная линия F_2 Айсауле/7668 *(var. italica Alef)* несущая 2 гена (*Pi-1* и *Pi-ta*) резистентности к *Magnaporthe oryzae.*

Теоретическая значимость исследования. Рассмотрены фундаментальные аспекты молекулярной генетики в области селекции риса, на выведение новых устойчивых к патогену казахстанской селекции современными методами. Теоретическая значимость исследования включает новые исходные предселекционные материалы, полученные с использованием методов традиционной гибридизации и MAS, для дальнейшего использования в отечественных программах по селекции риса. Все отобранные гибриды имеют потенциал для дальнейшего изучения и выведения сортов риса устойчивых к *Magnaporthe oryzae*. Анализ литературы показал, что подобные исследования не проводились в Казахстане. Результаты, полученные в данном исследований, могут служить основой для разработки новых стратегий в селекции риса с использованием MAS, направленных на создание конкурентоспособных сортов риса, имеющих значимость для внутреннего рынка.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Протестированы 35 отечественных и зарубежных сортов на наличие генов устойчивости к *Magnaporthe oryzae* с использованием SSR маркеров. Отобрано 27 доноров использовали для введения и пирамидирования генов устойчивости в высокопродуктивные казахстанские сорта риса с целью создания гибридов. Создано 54 гибридов, несущих в генотипе гены к пирикуляриозу путем переноса гена в казахстанские высокопродуктивные районированные сорта.

2. Отобраны 27 перспективных гибридных линий риса F_2, несущих гены резистентности к *Magnaporthe oryzae* с помощью МАС (маркер-опосредованной селекции). Выявлено 6 гибридов (7698/Айсауле var. *suberythroseros* Kan., Ару/7702 var. *erythroceros* Koern., Баканасский/7667 var. *subjanthoseros* Brsch., Баканасский/7667 var. *vulgaris* Koern., Баканасский/7701 var. *vulgaris* Koern., Айсауле/7664 var. *italica* Alef.), которые содержат 2 гена устойчивости к пирикуляриозу (*Pi-1* и *Pi-ta*), 1 гибрид Айсауле/7689 var. *zeravschanica* Brsch содержат 3 гена устойчивости к пирикуляриозу (*Pi-1, Pi-33* и *Pi-ta)* и 16 гибридов F_3 , содержащих 1 ген резистентности (*Pi-1).* Фитопатологический скрининг позволил выявить 37 гибридов F_2 поколения, с различными степенями устойчивости (от слабой до высокой) к популяции грибкового заболевания.

3. Созданы предселекционные продуктивные гибриды для отечественных программ по выведению устойчивых к пирикуляриозу сортов риса и дигаплоидная линия F_2.

Связь с планом основных научных работ. Исследовательская работа выполнена в лаборатории физиологии и биохимии растений Института биологии и биотехнологии растений КН МНВО РК в рамках проекта AP14869300 «Повышение устойчивости риса к *Magnaporthe oryzae* с использованием маркер-опосредованной селекции (MAS)» на 2022-2024 гг., финансируемый Комитетом науки Министерством науки и высшего образования Республики Казахстан.

Апробация научно-исследовательской работы. Результаты исследований опубликованы и доложены в международных научных конференциях «Селекция, семеноводство, технология возделывания и переработка сельскохозяйственных культур», посвященная 90-летию со дня образования ФГБНУ «ФНЦ риса» (Россия, 2021 г.) и «Экологическая генетика и здоровье населения: достижения и перспективы», Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию д.б.н., профессора, академика Национальной Академии Наук Высшей Школы РК и МАИН Бигалиева А.Б. (Казахстан, 2023 г.). Основные результаты представлялись на заседаниях кафедры молекулярной биологи и генетики КазНУ им. аль-Фараби, научных семинарах лаборатории физиологии и биохимии растений Института биологии и биотехнологии (ИББР), на ученом совете ИББР в заслушиваниях отчетов по проектам. Результаты диссертационной работы включены в ежегодные отчеты о НИР по проекту AP14869300 (2022-2024 гг.).

Публикации. Основные результаты диссертации отражены в 13 печатных работах, в том числе 4 статьи в изданиях, входящие во второй Q2 квартиль базы данных Scopus; 2 статьи в журналах, входящих в перечень КОКСНВО МНВО РК, в 1 монографии, 6 тезисов в материалах международных конференций.

Личный вклад соискателя заключается в теоретической подготовке и разработке программы исследований, формулировании задач и проведении научных экспериментов и опытов, а также в синтезе и анализе полученных результатов. В частности, соискатель принимал непосредственное участие в выполнении научных исследований, сборе, обработке и анализе экспериментальных данных, апробации результатов работы, а также в подготовке и публикации материалов исследования в научных изданиях, включая журналы, рекомендованные перечнем Комитет по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан, а также базы Scopus. Соискатель является ответственным исполнителем проекта, в рамках которого выполнялась исследовательская работа.