

Изучение биоразнообразия *Pyricularia oryzae* Cav. в рисосеющих зонах юга России на основе метода ПЦР*

Е. В. ДУБИНА¹, кандидат биологических наук, зав. лабораторией (e-mail: lenakrug1@rambler.ru)

М. Г. РУБАН¹, младший научный сотрудник

Ю. В. АНИСКИНА², кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

И. А. ШИЛОВ³, доктор биологических наук, зав. лабораторией

Н. С. ВЕЛИШАЕВА³, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

П. И. КОСТЫЛЕВ², доктор сельскохозяйственных наук, зав. лабораторией

Ю. А. МАКУХА¹, аспирант

Д. А. ПИЩЕНКО¹, зав. лабораторией

¹Всероссийский научно-исследовательский институт риса, пос. Белозёрный, 3, Краснодар, 350921, Российская Федерация

²Аграрный научный центр «Донской», пос. Научный городок, 3, Зерноград, 347740, Российская Федерация

³Всероссийский институт сельскохозяйственной биотехнологии, ул. Тимирязевская, 42, Москва, 127550, Российская Федерация

Резюме. На основе молекулярно-генетических подходов с использованием фрагментного анализа, а также классических микробиологических методов изучена генетическая структура и биоразнообразие фитопатогенного гриба *Pyricularia oryzae* Cav. на юге России. Исследования проведены в 2015–2017 гг. во Всероссийском научно-исследовательском институте риса при сотрудничестве с Всероссийским научно-исследовательским институтом сельскохозяйственной биотехнологии и Аграрным научным центром «Донской». Выделено 57 штаммов патогена из поражённого гербарного материала, собранного с полей 8 экологических рисосеющих зон Краснодарского края (Красноармейский, Калининский, Крымский, Абинский, Темрюкский, Северский, Славянский районы, г. Краснодар), а также Ростовской области (Пролетарский район) и Республики Адыгея. Патогены культивировали на морковно-сахарной среде при влажности 100 % и температуре $27 \pm 1^\circ\text{C}$. ДНК выделяли из смеси мицелия моноконидиальной культуры методом СТАВ с использованием гексадецилтриметиламмония бромидом в качестве детергента в лизирующем буфере. На основе разработанной ранее мультиплексной ПЦР выявлены 22 генотипа *Pyricularia oryzae* Cav. Каждый из них характеризуется уникальным генетическим профилем. Составлены их ДНК-паспорта. По морфолого-культуральным признакам изоляты разделили на 11 морфотипов. Расхождения результатов ДНК-анализа и анализа по морфолого-культуральным признакам связаны с тем, что во втором случае некоторые штаммы характеризовались неоднородностью колонии (секторами). Эти знания позволяют прогнозировать появление новых рас и патотипов *Pyricularia oryzae* Cav., а также определять гены (а)вирулентности в рисосеющих регионах России. Последнее служит необходимой теоретической базой для создания генетических источников с длительной устойчивостью к пирикулярриозу.

Ключевые слова: рис, пирикулярриоз, *Pyricularia oryzae* Cav., изоляты, ПЦР, микросателлитные маркеры, ДНК-паспорта.

Для цитирования: Изучение биоразнообразия *Pyricularia oryzae* Cav. в рисосеющих зонах юга России на основе метода ПЦР / Е. В. Дубина, М. Г. Рубан, Ю. В. Анискина и др. // Достижения науки и техники АПК. 2018. Т. 32. № 10. С. 19–23. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-11004.

Среди грибных заболеваний, поражающих рис, пирикулярриоз – наиболее вредоносное и распространенное в мире. Болезнь вызывает несовершенный гриб *Pyricularia oryzae* Cav. (*Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr) из порядка Hyphomycetales [1]. Рис восприимчив к пирикулярриозу во все фазы вегетации. Болезнь поражает все надземные органы растения – листья, узлы стеблей, метёлку [2].

В рисосеющих регионах России растёт распространение и вредоносность этого заболевания. В 2013 г. эпифитотия пирикулярриоза поразила более 40 % посевных площадей риса Краснодарского края. Урожайность снизилась с 6,3 до 5,6 т/га, рентабельность отрасли – с 20 до 10 %. Вновь создаваемые сорта быстро теряют устойчивость к новым расам и патотипам патогена, так как высокая изменчивость гриба *Pyricularia oryzae* Cav. опережает эволюцию растения-хозяина. Поэтому знание генетического разнообразия возбудителя представляет собой неотъемлемую часть системы защиты риса.

Вопрос изучения генетической структуры, определения патотипа местной популяции *Pyricularia oryzae* Cav., а также эффективных генов резистентности к пирикулярриозу очень актуален. Для его решения перспективно использование молекулярного маркирования.

Сейчас в геноме аскомицета *Pyricularia oryzae* Cav. идентифицирован и охарактеризован ряд SSR-содержащих локусов [3, 4, 5]. Из множества возможных вариантов микросателлитного полиморфизма исследователи предлагают для работы 23 маркера [6, 7, 8]. Было показано, что они способны выявлять полиморфизм среди 6-и изученных во Франции изолятов [9, 10, 11]. Исследованные последовательности распределены по всем 7-и хромосомам *Pyricularia oryzae* Cav. (рис. 1) [12, 13, 14].

При этом микросателлитные маркеры дают лучшую генетическую характеристику для *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Fusarium oxysporum* и *Fusarium circinatum*, по сравнению с другими маркерными системами [17].

Цель исследований – изучить генетическую структуру и биоразнообразие высоковариабельного грибного фитопатогена *Pyricularia oryzae* Cav. юга России на основе морфолого-культуральных признаков, а также метода ПЦР с использованием SSR-маркеров.

Такие исследования представляют особый интерес, поскольку позволяют прогнозировать появление новых рас и патотипов *Pyricularia oryzae* Cav. в рисосеющих регионах. Последнее необходимо для создания генетических источников с длительной устойчивостью к заболеванию.

Новизна исследований заключается в изучении внутривидовой структуры популяции возбудителя пирикулярриоза на юге России на основе молекулярно-генетических подходов с использованием SSR-маркеров. Впервые дана характеристика популяции *Pyricularia oryzae* Cav. по ДНК-полиморфизму и составлены «ДНК-паспорта» изолятов возбудителя

*Исследования выполнены при поддержке гранта ФГБУ «РФИ» «р_а» № 16-44-230178 «Изучение генетической структуры популяции возбудителя *Pyricularia oryzae* Cav. и научное обоснование иммуногенетической защиты культуры риса».

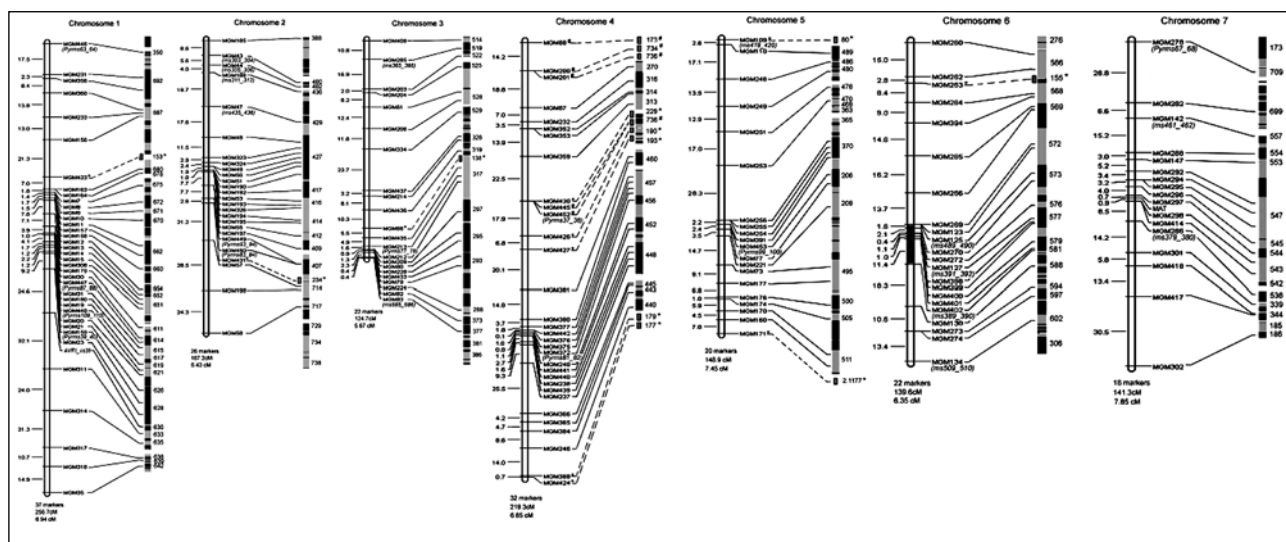


Рис. 1. Генетическая карта *P. oryzae* Cav., созданная на основе физической карты (вариант 5) и ее сравнение с физической картой [15, 16].

пирикулярноза, выделенных в разных экологических зонах юга России.

Условия, материалы и методы. Исследования выполнены во Всероссийском научно-исследовательском институте риса совместно с Всероссийским научно-исследовательским институтом сельскохозяйственной биотехнологии (г. Москва) и Аграрным научным центром «Донской» (г. Зерноград) в 2016–2018 гг.

В результате обследования в 2015–2017 гг. 25 рисосеющих хозяйств в восьми экологических зонах

Краснодарского края (Красноармейский, Калининский, Крымский, Абинский, Темрюкский, Северский, Славянский районы, г. Краснодар – пос. Белозёрный), а также ОПХ «Пролетарское» Ростовской области (Пролетарский район) и Республики Адыгея был собран гербарный материал с признаками болезни. Из пораженных листьев, узлов стебля, метелок растений риса выделено 57 штаммов (популяций) *Pyricularia oryzae* Cav. с различной спорулирующей способностью, послуживших материалом для молекулярно-генетических исследований

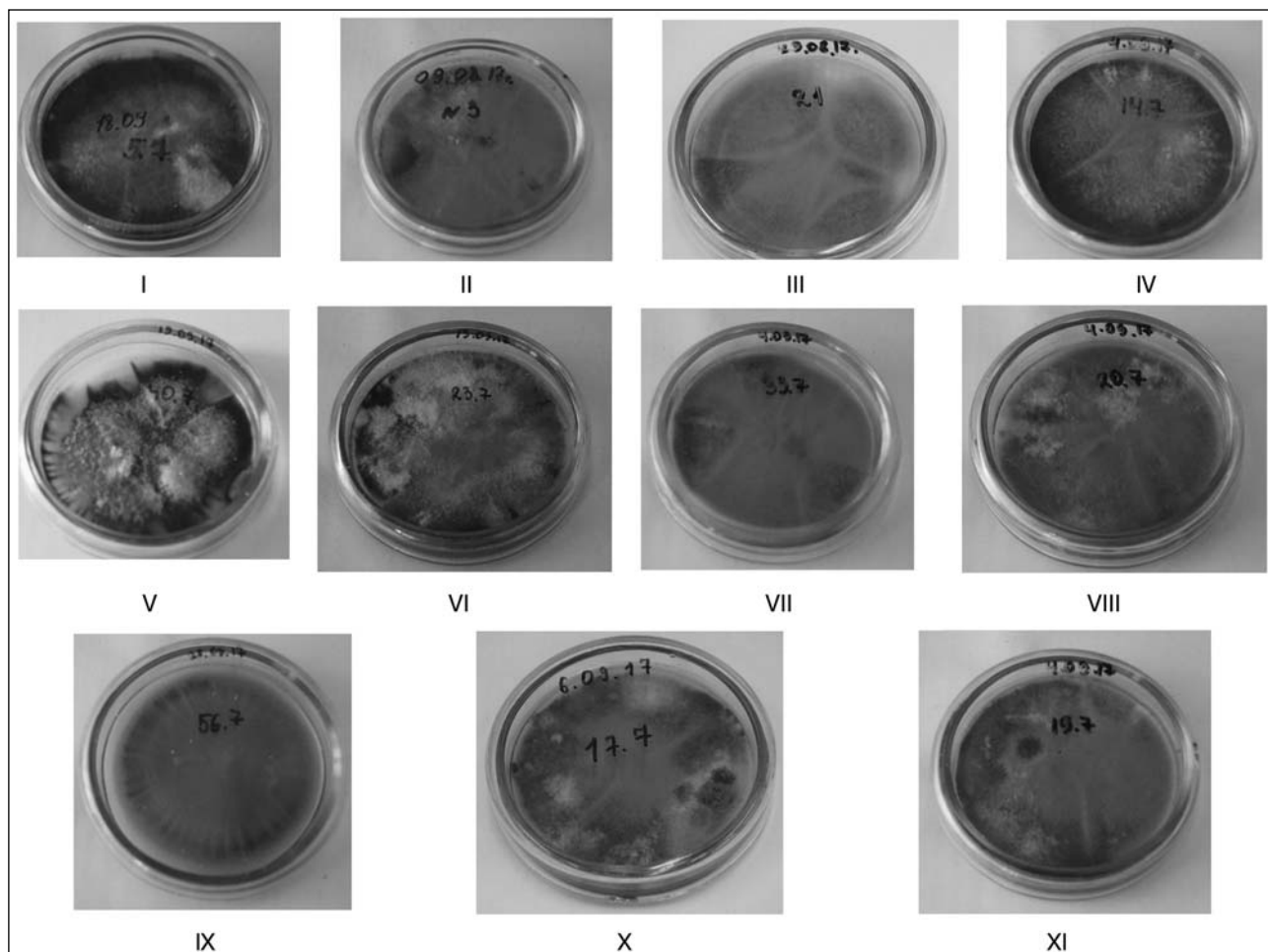


Рис. 2. Морфолого-культуральные признаки штаммов возбудителя пирикулярноза *Pyricularia oryzae* Cav.

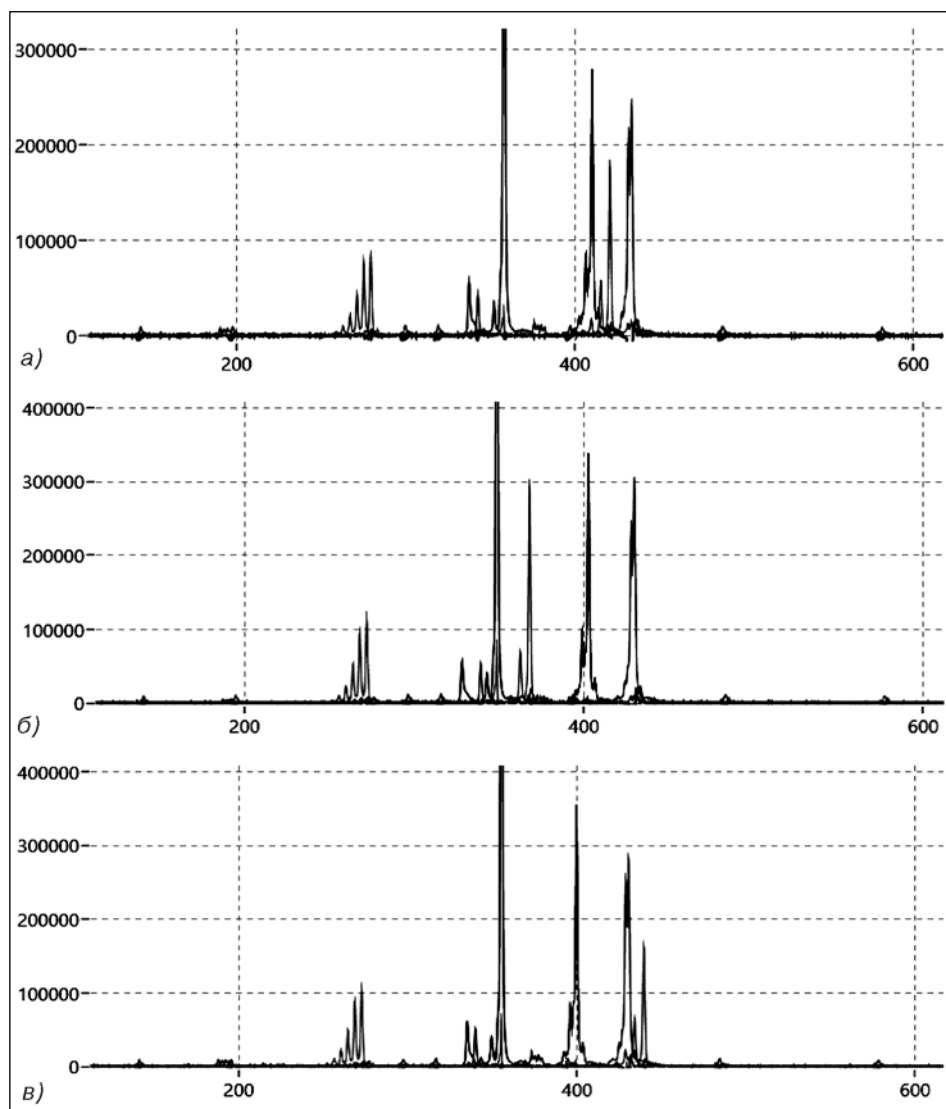


Рис. 3. Генетические профили изолятов *Pyricularia oryzae* Cav., выявленные в результате ДНК-анализа: а) штамм №33-17 (Красноармейский район) – генотип $A_{140} B_{173} C_{180} D_{206} E_{214} F_{221}$; б) штамм №39-17 (Северский район) – генотип $A_{138} B_{173} C_{180} D_{206} E_{188} F_{221}$; в) штамм №40-17 (Северский район) – генотип $A_{138} B_{173} C_{180} D_{206} E_{204} F_{221}$.

Культуру гриба выделяли из поражённых тканей риса в соответствии с методическими указаниями ВНИИ фитопатологии [1]. Образцы поражённой ткани промывали стерильной водой и размещали на стерильную морковно-сахарную агаровую среду в чашки Петри, которую затем устанавливали во камеру с влажностью 100 % при температуре $27 \pm 1^\circ\text{C}$, оптимальной для образования конидий гриба *Pyricularia oryzae* Cav. Полученную чистую культуру культивировали в термостате до распределения колонии гриба по всей поверхности агаровой среды, затем описывали и распределяли выделенные изоляты по морфолого-культуральным признакам.

ДНК гриба *Pyricularia oryzae* Cav. для молекулярно-генетических исследований выделяли из смеси мицелия моноконидиальной культуры методом СТАВ с использованием гексадецилтриметиламмония бромидом в качестве детергента в лизирующем буфере [18].

Ранее мы разработали мультипраймерную ПЦР-систему, включавшую 6 пар праймеров (Pyrms 07-08, Pyrms 37-38, Pyrms 77-78, Pyrms 101-102, Pyrms 233-234, Pyrms 409-410, Pyrms 453-454, Pyrms 533-34, Pyrms 657-658) [19, 21, 22]. ПЦР проводили в объеме 25 мкл, содержащем 1-х ПЦР-буфер, 1,25 ед.

Taq ДНК-полимеразы, 100 мкмоль dNTP (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), по 10 пкмоль прямого и обратного праймеров и 5 мкл раствора ДНК. Амплификацию осуществляли в детектирующем термоциклере (CFX-BioRad, США) по следующей программе: $95^\circ\text{C} - 10 \text{ мин.}$, ($94^\circ\text{C} - 30 \text{ с.}$, $55^\circ\text{C} - 30 \text{ с.}$, $72^\circ\text{C} - 30 \text{ с.}$) – 30 циклов. Фрагментный анализ выполняли на автоматическом генетическом анализаторе «НАНОФОР-05» (Институт аналитического приборостроения РАН, Россия).

Ранжирование выделенных изолятов патогена в группы по признаку генетического родства и расчет корреляционных связей между генотипами популяции *Pyricularia oryzae* Cav. проводили на основе фитопатологического теста и его молекулярного (микросателлитного) «фингери́нта».

Результаты и обсуждение. У большинства изученных в 2015–2017 гг. штаммов патогена *Pyricularia oryzae* Cav. рост колонии был неоднородным, и по морфолого-культуральным признакам их разделили на следующие морфотипы /кластеры (рис. 2):

I – имеющие низкий порошистый, концентриче-

ский характер роста колонии серого цвета – штаммы № 5-17 (Славянский район);

II – имеющие низкий войлочный (слегка пушистый) характер роста колонии от светло-серого до серого и серо-оливкового цвета – штаммы № 3-17, 4-17, 6-17, 8-17, 9-17, № 27-17 (Славянский район и г. Красно-дар);

III – имеющие низкий плотный (слегка пушистый) характер роста колонии от светло-серого до серого цвета – штаммы № 7-17 (Славянский район), 21-17, 26-17 (Красноармейский район);

IV – имеющие клочковатую, войлочную и низко порошистую структуру от светло-серого до темно-серого и оливкового цвета – штаммы № 14-17, 22-17 (Красноармейский район), № 37-17, 38-17 (Калининский район) и №39-17 (Северский район);

V – имеющие высокий рыхлый клочковатый «лучистый» характер роста колонии от белого до коричнево-оливкового цвета – штамм № 40-17 (Северский район);

VI – имеющие неоднородные сектора с рыхлым клочковатым и низким войлочным ростом колонии от светло-серого до темно-серого и оливкового цвета – штаммы № 23-17, 34-17 (Красноармейский

Таблица. Классификация штаммов возбудителя пирикулярриоза *Pyricularia oryzae* Cav. на основе полученных генетических профилей и их «ДНК-паспорта»

Генотип	A 07-08	B 47-48	C 83-84	D 43-44	E 99-100	F 427-428	№ штамма
1	124	171	186	210	199	206	K4-16
2	128	175	178	223	223	223	37-17
3	130	175	178	219	223	223	5-17
4	130	175	178	221	220	223	K1-16
5	132	175	178	221	223	223	55-17
6	134	175	178	223	223	223	18-16
7	138	173	180	204	211	219	48-16
8	138	173	180	204	214	221	3-17, 4-17, 14-17, 34-17
9	138	175	180	204	214	221	27-17
10	138	173	180	204	226	221	40-17
11	138	173	178	206	188	221	39-17
12	138	173	180	206	214	221	19-17
13	138	173	180	206	214	223	56-17
14	138	173	180	208	214	221	26-17
15	140	173	180	204	214	221	17-17, 21-17
16	140	173	180	208	214	221	33-17
17	140	173	180	225	220	221	20
18	146	179	180	214	211	223	7-16
19	130	176	179	222	220	224	12, 21, 37, 38, 50, 11, 30, 32
20	138	174	182	205	214	222	5, 31, 39, 7, 6
21	130	176	179	222	223	224	2, V, 8
22	124	172	187	212	200	208	4

район), 55-17 (Крымский район), № 58-17 (Республика Адыгея);

VII – имеющие неоднородные сектора с порошистым и войлочным ростом колонии от светло-оливкового до темно-серого цвета – штамм № 33-17 (Красноармейский район);

VIII – имеющие неоднородную низкоплотную с белыми зонами структуру колонии от белого до серого цвета – штамм № 20-17 (Красноармейский район);

IX – имеющие низкий порошистый «лучистый» концентрический характер роста колонии серого цвета – штамм № 56-17 (г. Краснодар, пос. Белозёрный);

X – с низкой плотной и слегка пушистой структурой светло-серого и серого цвета колонии – штамм № 17-17 (Красноармейский район);

XI – имеющие низкий войлочный и слегка пушистый характер роста колонии от светло-серого до серо-оливкового цвета колонии – штамм № 19-17 (Красноармейский район).

Таким образом, в обследованных экологических зонах наибольшее разнообразие фитопатогенного гриба *Pyricularia oryzae* Cav. было отмечено в Красноармейском районе, где выделено 8 морфотипов *Pyricularia oryzae* Cav. (21-17, 26-17, 14-17, 22-17, 23-17, 34-17, 19-17, 20-17).

При сопоставлении данных за 2015–2017 гг., в 2017 г. было выявлено 4 новых морфотипа патогена (штаммы № 17-17, 19-17, 20-17, 40-17), которые имеют уникальный генетический профиль.

В результате ДНК-анализа для каждого штамма были получены индивидуальные генетические профили (см. рис. 2, см. табл.). В качестве положительных контролей использовали образцы ДНК изолятов с известными генетическими профилями, принадлежащими к четырём разным генотипам: K1 – штамм № 12, K2 – штамм № 5, K3 – штамм № 8 и K4 – штамм № 4. При повторном анализе этих образцов были получены воспроизводимые результаты. В качестве примера приведены генетические профили некоторых штаммов (рис. 3):

Знание генотипов позволит при мониторинге проводить оценку на изменчивость и выявлять новые патотипы и расы патогена в рисосеющих регионах Российской Федерации, правильно вести селекцию и подбирать средства химической защиты растений.

Среди 57 исследованных штаммов выявлено 22 генотипа, между которыми имелись генетические различия (см. табл.).

Анализ результатов, полученных на основе ПЦР и описания по морфолого-культуральным признакам, показал, что при распределении штаммов патогена на морфо- и генотипы имеются некоторые различия. Так, по результатам генетического анализа штаммы № 3-17, 4-17, 14-17 и 34-17 имеют сходный генетический профиль, но различаются по морфолого-культуральным признакам. Штаммы 26-17, 21-17, 7-17 имеют одинаковый морфотип, но отличаются по генетическим профилям. Штаммы № 17-17 и 21-17 по генотипу схожи, но отличаются по морфотипу. Штамм № 9 относится к одному кластеру со штаммом № 7-17 по генетическому профилю, но по морфологическим признакам они отличаются. Штаммы № 37-17, 14-17, 39-17 различаются по генотипу, а по морфотипу входят в один кластер. Остальные изученные в работе штаммы соответствуют распределению их в группы по морфолого-культуральным признакам и генетическим профилям.

Выводы. По морфолого-культуральным признакам изученные в работе штаммы *Pyricularia oryzae* Cav. разделили на 11 типов (патотипов), по результатам ДНК-анализа – на 22 генотипа. Расхождения результатов связаны с тем, что при описании по морфолого-культуральным признакам некоторые штаммы характеризовались неоднородностью колонии (секторами).

ДНК-анализ более точен, поскольку позволяет дать характеристику исследуемого образца по генотипу, а это имеет ряд преимуществ, по сравнению с оценкой по фенотипу. Тем не менее, эти методы могут дополнять один другой при изучении биоразнообразия возбудителя заболевания.

Литература.

1. Методические указания по оценке устойчивости сортов риса к возбудителю перикюляриоза / Е. Д. Коваленко, Ю. В. Горбунова, А. А. Ковалева и др. М., 1988. 30 с.
2. Зеленский Г. Л. Селекция сортов риса, устойчивых к перикюляриозу, рисовой листовой нематоде и бактериальному ожогу в условиях Российской Федерации: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Краснодар, 1993. 48 с.
3. An AFLP-Based Procedure for the Efficient Mapping of Mutations and DNA Probes in Barley / P. Castiglioni, C. Pozzi, M. Heun, etc. // *Genetics*. 1998. Vol. 149. Pp. 2039–2056.
4. Kumar J., Zeigler R. Mating behaviour of *Magnaporthe grisea* from Central Himalayas of India // *Phytopathology*. 1995. Vol. 85. Pp. 1201 (Abstract).
5. Identification of pathogenic races of *Pyricularia oryzae* in India / S. Y. Padmanabhan, N. K. Chakrabarti, S. C. Mathur, etc. // *Phytopathology*. 1970. Vol. 60. Pp. 1574–1577.
6. Ahn S.N., Kim Y.K., Han S.S., et al. Molecular mapping of a gene for resistance to a Korean isolate of rice blast // *Rice Genet. Newsl.* 1996. Vol. 13. Pp. 74–76.
7. A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta* / G. T. Bryan, K. S. Wu, L. Farrall, etc. // *The Plant Cell*. 2000. Vol. 12. Pp. 2033–2045.
8. Fine mapping for blast resistance gene in rice (*Oryza sativa* L.) using bulked segregant analysis / N. T. Lang, G. S. Khush, N. Huang, etc. // *Omonrice*. 2001. Vol. 1. Pp. 1–8.
9. MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage map of experimental and natural population / E. S. Lauder, P. Green, J. Abrahamson, etc. // *Genomics*. 1987. Vol. 1. Pp. 174–181.
10. Light-Enhanced Resistance to *Magnaporthe grisea* Infection in the Rice *Sekiguchi* Lesion Mutants / S. Arase, K. Fujita, T. Uehara, etc. // *Journal of Phytopathology*. 2000. Vol. 148. Pp. 197–203.
11. Microsatellites and a single-nucleotide polymorphism differentiate apparent amylose classes in an extended pedigree of US rice germ plasm. / N. M. Ayres, A. M. McClung, H. P. D. Larkin, etc. // *Theor. Appl. Genet.* 1997. Vol. 94. Pp. 773–781.
12. Locating genes controlling allelopathic effects against barnyardgrass in upland rice / L. B. Jensen, B. Courtous, L. Shen, etc. // *Agron. Journ.* 2001. Vol. 93. Pp. 21–26.
13. The development of simple sequence repeat (SSR) markers for *Magnaporthe grisea* and their integration into an established molecular linkage map / C. Kaye, J. Milazzo, S. Rozenfeld, etc. // *Fungal Genet. Biol.* 2003. Vol. 40 (3). Pp. 207–214.
14. Molecular markers linked to the blast resistance gene *Pi-z*, in rice for use in marker-assisted selection / C. A. Conaway-Bormans, M. A. Marchetti, C. W. Johnson, etc. // *Theor. Appl. Genet.* 2003. Vol. 107. Pp. 1014–1020.
15. Gene analysis of panicle blast resistance in rice cultivars with rice stripe resistance / K. Fuji, Y. Hayano-Saito, N. Sugiura, etc. // *Breed. Res.* 1999. Vol. 1. Pp. 203–210.
16. Genetic diversity of rice blast fungus in a disease nursery in Colombia / M. Levy, F. J. Correa-Victoria, R. S. Zeigler, etc. // *Phytopathology*. 1993. Vol. 83. Pp. 1427–1433.
17. DNA fingerprinting to examine microgeographic variation in *Magnaporthe grisea* (*Pyricularia grisea*) population in two rice fields in Arkansas / J. Q. Xia, J. C. Corell, F. N. Lee, etc. // *Phytopathology*. 1993. Vol. 83. Pp. 1029–1035.
18. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic Acids Research*. 1980. Vol. 10. Pp. 4321–4325.
19. Khush G. S., Brar D. S., Hardy B. Rice genetics VI. Los Banos, NH, USA: Science Publishers, Inc., Enfield, 2001. 488 p.
20. Microsatellite markers for population studies of the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea* / H. Adreit, D. Santoso, D. Andriantimialona, etc. // *Journal compilation Molecular Ecology Notes*. 2007. Vol. 131. Pp. 667–670.
21. Development of minisatellite markers in phytopathogenic fungus, *Magnaporthe grisea* / C. Y. Li, J. B. Li, L. Liu, etc. // *Molecular Ecology Notes*. 2007. Vol. 131. Pp. 144–152.
22. Дубина Е. В., Костылев П. И., Есаулова Л. В. Разработка систем мультиплексной ПЦР для идентификации генов устойчивости к *Magnaporthe grisea* (Herbert) Barr и создание новых резистентных форм (доноров) *Oryza sativa* L. к патогену // *Зерновое хозяйство России*. 2015. № 1 (37). С. 30–34.
23. Classification of cultivated rice into indica and japonica types by the isozyme, RFLP, and two milled-rice methods / A. P. Resurreccion, C. P. Villareal, A. Parco, etc. // *Theor. Appl. Genet.* 1994. Vol. 89. Pp. 14–18.

Study of Biodiversity of *Pyricularia oryzae* Cav. by PCR-method in the Rice-Growing Areas in the South of Russia

E. V. Dubina¹, M. G. Ruban¹, U. V. Aniskina³, I. A. Shilov³, N. S. Velishaeva³, P. I. Kostylev², Yu. A. Makukha¹, D. A. Pishenko¹

¹All-Russian Rice Research Institute, Krasnodar, p. Belozerny, 3, 350921, Russian Federation

²Agrarian Scientific Center «Donskoy», Zernograd, Nauchnyy gorodok, 3, 347740, Russian Federation

³All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, ul. Timiryazevskaya, 42, Moskva, 127550, Russian Federation

Abstract. Genetic structures and biodiversity of fungal phytopathogen *Pyricularia oryzae* Cav. were studied on the basis of molecular and genetic approaches with the use of fragment analysis as well as classic microbiological methods in the south of Russia. The investigations were carried out in 2015–2017 in the All-Russian Research Institute of Rice Breeding in collaboration with the All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology and Agrarian Scientific Center “Donskoy”. It was selected 57 strains of the pathogen from the damaged herbarium material collected in the fields of eight ecological rice-growing zones of Krasnodar Krai (Krasnoarmeysky, Kalininsky, Abinsky, Temryuksky, Seversky, Slavyansky districts, the city of Krasnodar), Rostov region (Proletarsky district) and the Republic of Adygeya. Pathogens were cultivated on carrot-sugar medium at the humidity of 100% and the temperature of 27±1 °C. DNA was isolated from a mixture of mycelium of monoconidial culture by CTAB-method with the use of hexadecyl trimethyl ammonium bromide as a detergent in the lysis buffer. Twenty-two genotypes of *Pyricularia oryzae* Cav. were revealed on the basis of multiplex PCR developed earlier. Every one of them is characterized by a unique genetic profile. Their DNA-passports were composed. The isolates were divided into 11 morphotypes according to morphological and cultural characteristics. The discrepancy between the results of DNA analysis and analysis by morphological and cultural features is due to the fact that in the second case some strains were characterized by heterogeneity of the colony (by sectors). This knowledge makes it possible to predict the appearance of new races and pathotypes of *Pyricularia oryzae* Cav., and also to determine genes of (a)virulence in the rice growing regions of Russia. The latter serves as a necessary theoretical basis for the creation of genetic sources with a long-lasting resistance to rice blast.

Keywords: rice; blast; *Pyricularia oryzae* Cav.; isolates; PCR; micro-satellite markers; DNA-passports.

Acknowledgement. Research was conducted with support of grant RFFR № 16-44-230178 «Study of genetic structure of population of *Pyricularia oryzae* Cav. agent and scientific ground of immune and genetic protection of rice crop».

Author Details: E.V. Dubina¹, D.Sc (Biol.), head of the laboratory (e-mail: lenakrug1@rambler.ru); M.G. Ruban¹, junior researcher; Yu.V. Aniskina², D.Sc (Biol.), Senior Researcher; I.A. Shilov², D.Sc (Biol.), head of the laboratory; N.S. Velishaeva², D.Sc (Biol.), Senior Researcher; P.I. Kostylev³, D.Sc (Agr.), head of the laboratory; Yu.A. Makukha¹, post graduate student; D.A. Pishenko¹, head of the laboratory.

For citation: Dubina E. V., Ruban M. G., Aniskina U. V., Shilov I. A., Velishaeva N. S., Kostylev P. I., Makukha Yu. A., Pishenko D. A. Study of Biodiversity of *Pyricularia oryzae* Cav. by PCR-method in the Rice-Growing Areas in the South of Russia. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2018. Vol. 32. No. 10. Pp. 19–23 (in Russ.). DOI: 10.24411/0235-2451-2018-11004.