

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 1684-2464

РИСОВОДСТВО

RICE GROWING

№ 4 (37)
2017

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Всероссийский научно-исследовательский институт риса»



РИСОВОДСТВО

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

ISSN 1684-2464

Учредитель: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт риса»
Издается с 2002 года
Периодичность - 4 выпуска в год

Журнал включен в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук, на соискание ученой степени кандидата наук. Дата включения издания в перечень - 6 июня 2017 года.

Главный редактор

С. В. ГАРКУША (ВНИИ риса),
д-р с.-х. наук, профессор
Заместитель главного редактора
В. С. КОВАЛЕВ (ВНИИ риса),
д-р с.-х. наук, профессор
Научный редактор
Э. Р. АВАКЯН (ВНИИ риса),
д-р биол. наук, профессор

Редакционная коллегия

И. Б. АБЛОВА (КНИИСХ им. П. П. Лукьяненко), д-р с.-х. наук
Т. Ф. БОЧКО (КубГУ), канд. биол. наук
ДЖАО НЬЯЛИ (Китай, Ляонинская Академия с.-х. наук), Ph.D
В. А. ДЗЮБА (ВНИИ риса), д-р биол. наук, профессор
Л. В. ЕСАУЛОВА (ВНИИ риса), канд. биол. наук
Г. Л. ЗЕЛЕНСКИЙ (КубГАУ), д-р с.-х. наук, профессор
С. В. КИЗИНЕК (РПЗ «Красноармейский» им. А. И. Майстренко), д-р с.-х. наук
С. В. КОРОЛЕВА (ВНИИ риса), канд. с.-х. наук
П. И. КОСТЫЛЕВ (ВНИИЗК им. И. Г. Калининко), д-р с.-х. наук
В. А. ЛАДАТКО (ВНИИ риса), канд. с.-х. наук
Ж. М. МУХИНА (ВНИИ риса), д-р биол. наук
А. Н. ПОДОЛЬСКИХ (Казахский НИИ рисоводства им. И. Жахаева), д-р с.-х. наук
М. А. СКАЖЕННИК (ВНИИ риса), д-р биол. наук
А. И. СУПРУНОВ (КНИИСХ им. П. П. Лукьяненко), д-р с.-х. наук
Н. Г. ТУМАНЬЯН (ВНИИ риса), д-р биол. наук, профессор
Е. М. ХАРИТОНОВ (ВНИИ риса), академик РАН, профессор
М. И. ЧЕБОТАРЕВ (КубГАУ), д-р техн. наук
А. Х. ШЕУДЖЕН (ВНИИ риса), академик РАН, профессор

Редактор **И. Г. ДОМИНОВА** (ВНИИ риса)
Переводчик **И. С. ПАНКОВА** (ВНИИ риса)

Адрес редакции:

Белозерный, 3, Краснодар, 350921, Россия
arri_kub@mail.ru, «В редакцию журнала»
Научный редактор: тел.: (861) 229-42-66

Свидетельство о регистрации СМИ
№ 019255 от 29.09.1999,
выдано Государственным комитетом РФ по печати.

В журнале публикуются оригинальные статьи проблемного и научно-практического характера, представляющие собой результаты исследований по физиологии, биотехнологии, биохимии, агрохимии; методические рекомендации по использованию сортов в различных почвенно-климатических регионах; сообщения о селекционных и семеноводческих достижениях; рассмотрение производственных и экономических проблем отрасли; а также обзорные, систематизирующие, переводные статьи, рецензии.

RICE GROWING

SCIENTIFIC RESEARCH AND PRODUCTION MAGAZINE

Founder: Federal State Budgetary Scientific Institution "ARRRI"
Published since 2002
Periodicity 4 issues a year

Journal is included into List of Leading peer-reviewed journals and publications, where basic scientific results of doctoral dissertations and Ph.D. dissertations should be published. Date of issue inclusion into the list - Juny 6th 2017.

Editor-in-Chief

S. V. GARKUSHA (ARRRI),
Dr. Sc. {Agriculture}, professor
Deputy Chief Editor
V. S. KOVALYOV (ARRRI),
Doctor of Agricultural Sciences, professor,
Scientific Editor
E. R. AVAKYAN (ARRRI),
Doctor of Biological Sciences, professor

Editorial Board

I. B. ABLOVA (Krasnodar Research Institute of Agriculture named after P. P. Lukianenko), Dr. Sc. {Agriculture}
T. F. BOCHKO (KubSU), Cand. Sc. {Biology}
ZHAO NIANLI (China, Liaoning Academy of Agricultural Science), Ph. I
V. A. DZYUBA (ARRRI), Dr. Sc. {Biology}, professor
L. V. ESAULOVA (ARRRI), Cand. Sc. {Biology}
G. L. ZELENSKY (KubSAU), Dr. Sc. {Agriculture}, professor
S. V. KIZINEK (Krasnoarmeysky Rice Growing Pedigree Plant named after A. I. Maystrenko), Dr. Sc. {Agriculture}
S. V. KOROLYOVA (ARRRI), Cand. Sc. {Agriculture}
P. I. KOSTYLEV (All-Russian Research Institute of Grain Crops named after I. G. Kalinenko), Dr. Sc. {Agriculture}
V. A. LADATKO (ARRRI), Cand. Sc. {Agriculture}
Zh. M. MUKHINA (ARRRI), Dr. Sc. {Biology}
A. N. PODOLSKIKH (Kazakh Scientific Research Institute of Rice Growing named after I. Zhakhaev), Dr. Sc. {Agriculture}
M. A. SKAZHENNIK (ARRRI), Dr. Sc. {Biology}
A. I. SUPRUNOV (Krasnodar Research Institute of Agriculture named after P. P. Lukianenko), Dr. Sc. {Agriculture}
N. G. TUMANIAN (ARRRI), Dr. Sc. {Biology}, professor
E. M. KHARITONOV (ARRRI), Member of the Russian Academy of Sciences, professor
M. I. CHEBOTAREV (KubSAU), Dr. Sc. {Engineering}
A. KH. SHEUDZHEN (ARRRI), Member of the Russian Academy of Sciences, professor

Editor **I. G. DOMINOVA** (ARRRI)
Interpreter **I. S. PANKOVA** (ARRRI)

Address:

Belozerny, Krasnodar, 350921, Russia
arri_kub@mail.ru, "Attn. Editors of the Magazine"
Scientific Editor: tel. (861) 229-42-66

Mass Media Registration Certificate
#019255 dd. 29.09.1999, issued by National Press Committee of the Russian Federation.

The magazine features original articles addressing problem areas and applied scientific research results (namely, those related to physiology, biotechnology, biochemistry and agrochemistry); methodological recommendations on the use of rice varieties in various soil and climatic regions; reports on breeding and seed growing achievements; reviews of production and financial issues faced by the industry; overviews, systematizations, translations and reviews of articles.

чеством семян риса / А. П. Сметанин, В. А. Дзюба, А. И. Апрод. – Краснодар: Краснодарское кн. изд-во. – 1972. – 156 с.

5. Шеуджен, А. Х. Методика агрохимических исследований и статистическая оценка их результатов: учеб. пособие. 2-е изд. перераб. и доп. / А. Х. Шеуджен, Т.Н. Бондарева. – Майкоп: ОАО «Полиграф-ЮГ», 2015. – 664 с.

Максим Александрович Ладатко

Вед. науч. сотр. лаборатории сортовой агротехники и паспортизации сортов риса
E-mail: maxilad@mail.ru
ФГБНУ «ВНИИ риса»
Белозерный, 3, Краснодар, 350921, Россия

Maxim A. Ladatko

Leading researcher, laboratory of varietal agricultural technology and certification of rice varieties
All-Russian Rice Research Institute
3 Belozerny, Krasnodar, 350921, Russia

УДК 575.12:633.854.78

К. В. Азарин, канд. биол. наук,
А. В. Усатов, д-р биол. наук,
г. Ростов-на-Дону, Россия,
П. И. Костылев, д-р с.-х. наук,
г. Зерноград, Россия

**СЕЛЕКЦИЯ РИСА, УСТОЙЧИВОГО К ПОЛНОМУ ЗАТОПЛЕНИЮ
(обзор)**

Рис обычно выращивают на заливаемых анаэробных почвах, однако даже эта культура чувствительна к полному затоплению. В мире селекция сортов риса, устойчивых к длительному затоплению, связана как с климатическими особенностями обширных районов возделывания, подверженных наводнению, так и с переходом от рассадной культуры к прямому севу семенами. Для России наиболее актуальным вариантом использования устойчивости к затоплению является борьба с сорными растениями за счет глубокого слоя воды, который сорняки преодолеть не в состоянии. Введение локусов устойчивости в высокопродуктивные образцы, адаптированные к определенным агроклиматическим условиям, считают наиболее перспективным направлением селекции сортов, устойчивых к абиотическим и биотическим стрессам. Применение специализированных ДНК-маркеров, ассоциированных с такой устойчивостью, обеспечивает четкий контроль наследования целевого локуса. Как следствие, отбор с помощью ДНК-маркеров в настоящее время все чаще используют в качестве высокотехнологичного инструмента в реальных селекционных программах, в том числе и при создании риса, устойчивого к полному затоплению. В представленной статье суммированы исследования, направленные на решение проблемы селекции риса, устойчивого к полному затоплению. Приведены данные о механизмах, стратегиях адаптации, локусах, ассоциированных с устойчивостью к этому стресс-фактору. Большое внимание уделено исследованиям, направленным на практическое применение молекулярно-генетических маркеров в селекции устойчивых к затоплению сортов.

Ключевые слова: устойчивость, затопление, ДНК-маркеры, рис.

BREEDING OF FLOOD-TOLERANT RICE (review)

Rice is a unique crop, which is usually grown in flooded soil. However, not all rice variety according to its genotype can tolerate to complete flooding. In the world, development of the submergence tolerant versions of rice cultivars linked to the fact that the large growing areas are prone floods due to the climatic changes. Another aspect of the use this trait is the transition from seedling to direct sowing seeds. In Russia

complete flooding is used to weeds control because they can not overcome deep layer of water. The introduction of tolerance QTLs into highly productive cultivars adapted to certain agro-climatic conditions is considered to be the most promising trend for breeding of varieties resistant to abiotic and biotic stresses. The use of DNA markers associated with tolerance provides a clear control of the inheritance of the target locus. As a consequence, the selection using DNA markers is now increasingly used as a high-tech tool in real breeding programs, including for development of submergence tolerant rice. In the presented study were summarizes the researches devoted the problem of breeding of submergence tolerant rice. Data on mechanisms, adaptation strategies, loci associated with resistance to this stress are given. We had placed great emphasis on researches aimed at application of molecular-genetic markers in the breeding of complete flooding tolerant varieties.

Key words: *submergence tolerance, DNA-markers, rice.*

Введение

Затопление вызывает у растений нарушение таких основных физиологических процессов, как поглощение воды, дыхание, фотосинтетическая активность. Даже непродолжительное переувлажнение значительно снижает урожайность сельскохозяйственных культур [17, 20, 34, 38]. Рис (*O. sativa*) обычно выращивают на затопляемых анаэробных почвах, однако даже эта культура чувствительна к полному затоплению [17, 18, 34]. Затопление является одним из главных абиотических стрессов в Южной и Юго-Восточной Азии. Более 16 млн га рисовых полей в данном регионе подвержены ежегодным наводнениям и как ожидается, вследствие происходящих климатических изменений эта цифра будет только расти [14, 29].

Кроме того, борьба с сорной растительностью предполагает использование средств химической защиты, несмотря на высокую их токсичность. При этом практика показывает, что химическая защита растений в ряде случаев или неэффективна, или нерентабельна [4]. В связи с этим необходимы сорта риса, сочетающие высокую продуктивность со способностью к прорастанию из-под глубокого слоя воды.

Механизмы устойчивости к затоплению

В отличие от других сельскохозяйственных растений, у риса в процессе эволюции сформировался ряд механизмов устойчивости к затоплению. Одним из них является образование продольных взаимосвязанных воздушных полостей, или аэренхимы, которая позволяет осуществлять транспорт кислорода от хорошо аэрируемых побегов к погруженным в воду корням [11, 26]. Молекулы кислорода, диффундирующие через аэренхиму к апикальной меристеме корня, могут быть использованы как в процессе дыхания, так и рассеиваться радиально в ризосферу [12]. Для предотвращения радиальной диффузии кислорода в ризосферу в условиях затопления у риса вокруг аэренхимы формируется плотный барьер из суберинизированных и лигнифицированных клеточных стенок наружных слоев корня. Также считают, что

этот барьер препятствует проникновению в корни растений различных токсичных веществ, образованных в почве в результате анаэробнозиса [12, 20].

Еще одним механизмом является формирование воздушной пленки на поверхности погруженных в воду листовых пластин [40]. Показано, что удаление газовой пленки уменьшает порционное давления кислорода в корнях, а также снижает эффективность фотосинтеза и прирост сухой массы корней и побегов [40, 57]. Несмотря на приведенные выше адаптивные механизмы к условиям недостатка кислорода, многие сорта риса чувствительны к полному затоплению. Их листья и стебли в условиях полного погружения умеренно удлиняются, достигая поверхности воды, однако такое удлинение истощает энергетические резервы, приводя к снижению продуктивности и даже гибели растений [6]. Тем не менее некоторые формы риса обладают высокой толерантностью к данному стресс-фактору. Как правило, такая устойчивость реализуется посредством двух различных стратегий контроля роста. Одна из них – это так называемая стратегия покоя, при которой прекращается удлинение корней и побегов растений, и тем самым сохраняется необходимая энергия для возобновления роста после снижения уровня воды [19]. Такие формы риса устойчивы к кратковременному затоплению периодом 10-14 дней [13]. В данном случае можно наблюдать отрицательную корреляцию между удлинением вегетативных органов растений и выживанием в условиях полного затопления.

Другая стратегия заключается в быстром удлинении листьев и междоузлий при затоплении [7]. Так, некоторые сорта могут увеличивать длину побега более чем на 25 см в день [21]. Такое быстрое удлинение позволяет концам листьев в кратчайший срок выйти на поверхность воды, что дает возможность для эффективного фотосинтеза и газообмена [7]. Обе стратегии обусловлены этилен-зависимыми факторами транскрипции [18, 58]. Более подробно механизмы устойчивости растений к затоплению изложены в следующих обзорах [6, 7, 13, 24, 35, 39].

Локусы, ассоциированные с устойчивостью к затоплению. Как было упомянуто выше, некоторые сорта риса способны ограничивать свой рост в период затопления и возобновлять его после снижения уровня воды. Одним из наиболее известных доноров такой устойчивости является традиционный индийский сорт FR13A. Этот сорт активно используется селекционерами во всем мире, начиная с 70-х годов прошлого века. Однако генетическая основа толерантности FR13A к водному стрессу долгое время оставалась неизученной.

Во второй половине 90-х годов двумя независимыми исследовательскими группами с использованием рекомбинантных инбредных линий, полученных на основе FR13A, были описаны один мажорный (впоследствии названный *Sub Mergence 1* или *Sub 1*) и несколько минорных локусов (QTL) устойчивости к затоплению [59]. Позже было установлено, что локус *Sub 1* состоит из трех генов (*Sub1A*, *Sub1B* и *Sub1C*), кодирующих этилен зависимые факторы транскрипции и активирующихся в условиях затопления [58]. *Sub1B* и *Sub1C* представлены у всех культурных форм *O. sativa*, которые были исследованы до сих пор, в то время как *Sub1A* обнаруживают только у устойчивых форм [58, 59]. В данном случае накопление этилена в проростках риса, покрытых водой, служит исходным сигналом экспрессии *Sub1A*, что в дальнейшем приводит к остановке роста. Чтобы сохранить энергию и углеводы у растений, несущих *Sub1A*, подавляется экспрессия генов, кодирующих α -амилазу и сахарозо-синтазу, участвующих в метаболизме крахмала и сахарозы [19]. Кроме того, *Sub1A* увеличивает экспрессию генов *SLR1* и *SLRL1* – ключевых репрессоров гиббереллиновой сигнализации у риса, что негативно регулирует удлинение стебля во время затопления [18]. В работе [45] показано, что степень толерантности к затоплению определяет уровень экспрессии *Sub1A*. На практике это означает, что для получения максимального эффекта устойчивости у гибридных растений оба родителя должны нести *Sub1A*. Более того, исследование аллельных вариантов гена *Sub1A* выявило существование устойчивой (*Sub1A-1*) и неустойчивой аллели (*Sub1A-2*) данного гена [46, 59]. Ген *Sub1A-1* был идентифицирован у *O. sativa* подвида *indica*, а также у таких видов, как *O. rufipogon* и *O. nivara* [38]. Примечательно, что у культурных форм риса подвида *japonica* данный локус не представлен.

Переход от рассадной культуры к прямому севу семян обязывает создавать сорта, толерантные к затоплению на ранних этапах онтогенеза. Так, прежде несколько QTL устойчивости к анаэробному прорастанию было обнаружено на 5 и 11 хромосомах [27]. В другой работе на основе гибридной популяции, полученной при скрещивании линии IR64 и донора устойчивости Khao Hlan On (Мьянма),

были идентифицированы пять перспективных QTL, расположенных на 1 (*qAG-1-2*), 3 (*qAG-3-1*), 7 (*qAG-7-2*), и 9 (*qAG-9-1* и *qAG-9-2*) хромосомах [47]. При этом, как отмечают авторы, наиболее многообещающим для селекции является QTL, расположенный на длинном плече хромосомы 9 (*qAG-9-2* или AG1) и ассоциированный с локальной модуляцией уровня трегалоза-6-фосфата (T6P).

Еще один локус устойчивости к анаэробному прорастанию был обнаружен на коротком плече хромосомы 7 (*qAG7.1* или AG2) при исследовании популяции растений, полученных от скрещивания чувствительной линии IR42 и толерантного китайского ландрас сорта Ma-Zhan Red [48]. В работе [60] с использованием 5291 SNP-маркеров, а также анализа профилей экспрессии с устойчивостью к затоплению на стадии прорастания был ассоциирован ген *Har.2*.

Идентификация генов, ответственных за удлинение междоузлий в ответ на затопление, была сделана в работах [21, 22, 23]. Используя потомство от скрещивания сорта Taichung 65 (T65) с умеренным ростом и сорта C9285, отличающегося интенсивным удлинением листьев и междоузлий при затоплении, исследователи первоначально определили 3 мажорных QTL, ассоциированных с признаком глубоководности. Среди них наибольшая эффективность была отмечена для локуса, расположенного на 12-ой хромосоме. Позиционное клонирование и функциональный анализ с использованием трансгенеза позволил выявить на этом участке гены *SNORKEL1* (*SK1*) и *SNORKEL2* (*SK2*), регулирующие ответ на глубоководное затопление. Глубоководный сорт C9285 обладал *SK1* и *SK2*, в то время как у неглубоководного T65 они отсутствовали. В ответ на глубоководное затопление высокий уровень экспрессии *SK*-генов отмечен в листовой пластине, листовом влагалище и базальной части стебля, включая узлы и междоузлия. Авторами также были созданы трансгенные растения, в которых *SK*-гены находились под управлением *OsAct1* промотора. Сверхпродукция *SK1* в таких растениях приводила к трехкратному удлинению междоузлий в сравнении с контролем, а *SK2* – к семикратному, даже в сухих условиях. Было показано, что *SK*-гены активируются этиленом и являются факторами транскрипции. При увеличении экспрессии *SK* наблюдается повышение содержания гиббереллиновой кислоты и снижение абсцизовой. Более того, во время удлинения междоузлий наблюдается увеличение уровня экспрессии экспансина, вовлеченного в размягчение клеточной стенки [8, 9, 32] и изменение ориентации микрофибрил целлюлозы [43]. Образование аэренхимы в междоузлиях происходит одновременно с их удлинением и усиливается этиленом [51]. Рост придаточных корней, которым предшествует отмирание эпидермальных клеток, покрывающих кор-

новые примордии, также активируется этиленом [52]. Как и в случае с *Sub1A*, гены *SK* в настоящее время были идентифицированы только у культурных форм *O. sativa* подвида *indica*.

Помимо основных локусов устойчивости к затоплению (см. выше) были идентифицированы также QTL с не столь явно выраженной фенотипической вариацией. Так, в одном из подробных исследований [54], с использованием FR13A и Jao Hom Nin в качестве доноров, выделили ряд QTL, расположенных на 1, 2, 5, 7, 10 и 11 группе сцепления. Мажорный QTL был идентифицирован на длинном плече хромосомы 1 [27]. В более раннем исследовании QTL, ассоциированные с устойчивостью, были показаны на хромосомах 6, 7, 11 и 12 [36]. Однако в данных работах использовались в основном маркеры полиморфизма длин амплифицированных фрагментов (AFLP), что затруднило точное определение положения QTL.

Маркерная селекция устойчивых к затоплению сортов риса. Вследствие стремительного развития новых методов молекулярной биологии появилась реальная возможность анализировать наследование признаков и свойств в их связи с конкретными последовательностями ДНК. Для такого нового подхода был введен термин – маркер-опосредованная селекция (Marker assisted selection, MAS) [41]. В настоящее время одним из наиболее широко используемых направлений MAS является маркер-ассоциированное беккроссирование (marker-assisted backcrossing, MABC). Основная цель MABC заключается в интрогрессии целевого гена (локуса) из агрономических нестандартных источников (родителей-доноров) в районированные элитные сорта. MABC значительно превосходит обычные беккроссирование по точности и эффективности [10].

Важным этапом в истории селекции риса на устойчивость к водному стрессу стала идентификация локуса *Submergence 1A* или *Sub1A*, который контролирует данный признак [58]. Полиморфизм последовательности ДНК как непосредственно в локусе, так и вокруг него позволил исследователям разработать и внедрить в селекционные программы информативные молекулярно-генетические маркеры, позволяющие контролировать перенос данного участка генома [37, 46, 58, 59]. Используя разработанные маркеры для интрогрессии *Sub1A* в существующие мега-сорта, селекционеры в кратчайшие сроки создали устойчивые формы риса без потери продуктивных и пищевых качеств [46, 49].

Так, ген устойчивости *Sub1A*, полученный от IR64, под контролем SSR маркера RM23805, был включен в восприимчивый сорт OM1490. Отличительной особенностью аллельного варианта локуса RM23805, наследуемого от устойчивого родителя IR64 (*Sub1A*), было наличие на электро-

фореграмме продукта амплификации молекулярной массой 230 п.о., тогда как аллель, полученный от восприимчивого OM1490, равен 240 п.о. Все линии с интрогрессированным *Sub1A* имели более высокий процент выживания в условиях стресса, чем исходная родительская форма [31].

В другой работе ген *Sub1A* был интрогрессирован в высокоурожайный индийский сорт Swarna. Селекционная схема выглядела следующим образом: вначале высокопродуктивный сорт Swarna был скрещен с донором локуса *Sub1A* – линией IR49830-7, затем F₁ растения снова скрестили со Swarna; из BC1F1 посредством индивидуального отбора были выделены растения, которые проанализировали на наличие донорской аллели с помощью маркерного локуса RM219, дистально фланкирующего локус *Sub1*. Отобранные растения проанализировали с использованием 23-х нецелевых SSR-маркеров и выделили образцы с наименьшим числом аллельных вариантов, характерных для генома донора (background selection). Ко второму поколению беккроссов применили ту же стратегию отбора отдельных растений с желаемой комбинацией аллелей в локусах-мишенях, включая отбор рекомбинантов между *Sub1* и ближайшим проксимальным маркерным локусом RM316. Результаты предложенной работы продемонстрировали возможность эффективного преобразования чувствительного мега-сорта без потери продуктивного потенциала в устойчивый к затоплению, в течение всего лишь трех возвратных скрещиваний [37].

Успешная интрогрессия локуса *Sub1A*, полученного из линии риса IR64, была произведена в популярный вьетнамский сорт риса AS996. При этом наследование *Sub1A* было подтверждено с помощью маркеров ART5 и SC3 [15]. Линия IR64-*Sub1* также была выбрана для интрогрессии локуса устойчивости в еще один элитный вьетнамский сорт Vachthom 7. Однако в этом случае наибольшую эффективность при контроле переноса искомого локуса проявили маркеры ART5 и RM23877 [33].

На сегодня ген *Sub1A* интрогрессирован в такие мега-сорта, как Samba Mahsuri и CR1009 (Индии), IR64 (Филиппин, IRRI), Thadokkham 1 или TDK1 (Лаоса), BR11 (Бангладеш). По результатам полевых испытаний все они показали более высокие значения выживаемости в условиях затопления, чем исходные родительские формы. При этом в нормальных условиях *Sub1A* не влиял на выражение других хозяйственно-ценных признаков [42, 45, 49].

Разработка высокопродуктивных сортов с интрогрессированным локусом устойчивости способствует дальнейшему включению *Sub1A* в новые селекционные формы. Это связано с тем, что родители-доноры уже хорошо адаптированы к местам культивирования и обладают многими желатель-

ными агрономическими признаками. Например, всего один беккросс был выполнен при получении сорта Ciherang-Sub1 с использованием в качестве донора родственного сорта IR64-Sub1 [44].

Маркерная селекция риса, толерантного к анаэробному прорастанию, началась с выявления локуса устойчивости *AG1* у сорта Khao Hlan On [5]. Интрогрессия QTL *AG1* была успешно произведена в такие азиатские сорта, как IR64, IR64-Sub, PSB Rc18-Sub1 и PSB Rc82. Ведутся работы по интрогрессии локуса *AG2*. При этом в качестве донора используют китайский традиционный сорт Ma-Zhan Red [48]. Исследование [53] было сосредоточено на переносе локуса *AG1* в сорт Ciherang, несущий ген *Sub1A*. Интрогрессия *AG1* и восстановление генома Ciherang были проведены в течение двух беккроссов с последующим самоопылением. Для контроля наследования *Sub1A* использовали SSR-маркеры RM8300 и ART5. Передачу *AG1*, в зависимости от популяции, к которой принадлежал донор, контролировали с использованием от двух до трех маркеров. Так, для популяции IR64-AG1c: IR93312-30-101-20-3-66-6-14 применили маркеры TPP_GE5 и HPP400_410_3, тогда как для IR64-AG1: IR93312-30-101-20-13-64-13 были использованы TPP_GE5, Drebups6bp и Drebds4bp. Отбор генетически сходных с Ciherang образцов из первого и второго поколений беккроссов проводили с помощью 26 SSR-маркеров, равномерно расположенных в геноме и выявляющих полиморфизм между IR64 и Ciherang. Интересно отметить, что большинство обнаруженных на сегодня мажорных QTL анаэробного прорастания получены от разных толерантных доноров, находятся в разных районах генома риса и при этом обладают аддитивным эффектом. В этой связи предполагается, что, в отличие от *Sub1A*, введение только одного QTL в сорта или линии риса не даст необходимого уровня толерантности к затоплению на стадии прорастания [41, 53]. В данном случае лучшей стратегией повышения толерантности к стрессу является пирамидирование QTL.

Совместная работа лаборатории молекулярной генетики Южного федерального университета и лаборатории селекции, семеноводства и технологии возделывания риса Донского аграрного центра позволила провести исследования информативности SSR-маркеров, ассоциированных с локусом устойчивости к затоплению *Sub1A*, с целью интрогрессии данного локуса в генотипы высокопродуктивных сортов отечественной селекции [1, 2, 3, 4]. В результате SSR-анализа образцов риса по 7 микросателлитным маркерам (RM 219, RM 316, RM 444, RM 464, RM 7481, RM 8303, RM 23877) было показано, что только RM 7481 дает специфические, хорошо воспроизводимые спек-

тры и является информативным в идентификации локуса *Sub1A*. Для оценки взаимосвязи наследования маркера RM 7481 и признака устойчивости к затоплению была проведена гибридизация между линиями – донорами локуса устойчивости BR-11, Inpara-3, CR-1009, TDK-1 и скороспелым российским сортом Новатор. По результатам ДНК-анализа гибридов F_2 выявлены образцы, несущие различные аллельные варианты *Sub1A* локуса. Оценка устойчивости к водному стрессу исследуемых гибридов риса и их родителей показала, что наиболее устойчивыми формами по показателю выживаемости были линии – доноры устойчивости и гибридные растения, несущие локус *Sub1A* в гомозиготном состоянии. В целом ДНК-анализ гибридных комбинаций риса F_2 , полученных на основе отечественного сорта Новатор и азиатских линий-доноров *Sub1A*, позволил идентифицировать 14 устойчивых образцов, гомозиготных по искомому локусу. Таким образом, в результате исследования SSR-маркеров, сцепленных с локусом устойчивости *Sub1A*, была показана высокая эффективность кодоминантного маркера RM 7481 для контроля передачи *Sub1A* QTL в сорта риса отечественной селекции [3].

Заключение

Следствием негативного воздействия среды на сельскохозяйственные культуры является снижение их урожайности [41]. Введение локусов устойчивости (QTL) в высокопродуктивные образцы, адаптированные к определенным агроклиматическим условиям, а также пирамидирование нескольких QTL в одном генотипе считается наиболее перспективным направлением в селекции сортов, устойчивых к абиотическим и биотическим стрессам [16, 25]. Применение специализированных ДНК-маркеров, ассоциированных с такой устойчивостью, обеспечивает четкий контроль наследования целевого локуса, что в итоге снижает временные и материальные затраты [30]. Как следствие, отбор с помощью ДНК-маркеров в настоящее время все чаще используют в качестве высокотехнологичного инструмента в реальных селекционных программах, в том числе и при создании риса, устойчивого к полному затоплению [10, 55, 56]. Тем не менее для решения проблем генетического маркирования селекционно-ценных признаков сельскохозяйственных культур необходима интеграция данных молекулярного генотипирования с данными классического анализа морфофизиологических признаков растений, как в лабораторных, так и в полевых экспериментах.

(Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Высокие технологии» ЮФУ при поддержке гранта Президента Российской Федерации № МК-6123.2016.11).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Азарин, К. В. Исследование SSR-маркеров устойчивости риса к длительному затоплению / К. В. Азарин, А. В. Усатов, М. С. Макаренко, П. И. Костылев, А. А. Ковалевич // Всероссийская конференции с международным участием «50 лет ВОГиС: успехи и перспективы», – 2016. – С. 66.
2. Азарин, К. В. Исследование линий риса с различной устойчивостью к полному затоплению / К. В. Азарин, А. В. Усатов, М. С. Макаренко, П. И. Костылев, А. Г. Федоренко // Годичное собрание общества физиологов растений России. Сигнальные системы растений: от рецептора до ответной реакции организма. – 2016. – С. 257.
3. Азарин, К. В. SSR-маркеры устойчивости риса к полному затоплению / К. В. Азарин, А. В. Усатов, П. И. Костылев, М. С. Макаренко, А. А. Ковалевич // Зерновое хозяйство России. – 2016. – Т. 4 (46). – С. 21-25.
4. Костылев, П. И. Перспективы использования устойчивого к длительному затоплению риса с геном sub1 в селекции российских сортов / П. И. Костылев, А. А. Редькин, Е. В. Краснова, А. В. Усатов, М. С. Макаренко // Зерновое хозяйство России. – 2014. – № 4. – 10 с.
5. Abdolhamid, S. QTLs associated with tolerance of flooding during germination in rice (*Oryza sativa* L.) / S. Abdolhamid, E. M. Septiningsih D. J. M. Abdelbagi M. Ismail // *Euphytica*, 2010. – V. 172. – P. 159–168.
6. Bailey-Serres, J. Submergence tolerant rice: SUB1's journey from landrace to modern cultivar / J Bailey-Serres, T. Fukao, P. Ronald, A. Ismail, S Heuer, D. Mackill // *Rice*. – 2010. – V. 5. – P. 138–147.
7. Bailey-Serres, J. Flooding stress: acclimations and genetic diversity / Bailey-Serres, J, Voeselek LACJ // *Annual Review of Plant Biology*. – 2008. – V. 5. – P. 313–339.
8. Cho, H. Expansins in deepwater rice internodes / Cho, H-, Kende H. // *Plant Physiol*. – 1997. – V. 113(4). – P. 1137-1143.
9. Cho, H. Expression of expansin genes is correlated with growth in deepwater rice / Cho, H-, Kende H. // *Plant Cell*. – 1997. – V. 9(9). – P. 1661-1671.
10. Collard, B. C. Marker-assisted selection: An approach for precision plant breeding in the twenty-first century / B. C. Collard and D. J. Mackill, // *Philo. Trans. B*. – 2008. – V. 363. – P. 557-572.
11. Colmer, T. D. Oxygen dynamics in submerged rice (*Oryza sativa*) / Colmer TD, Pedersen O. // *New Phytologist*. – 2008. – V. 5. – P. 326–334.
12. Colmer, T. D. Long-distance transport of gases in plants: a perspective on internal aeration and radial oxygen loss from roots // *Plant, Cell and Environment*. – 2003. – V. 5. – P. 17-36.
13. Colmer, T. D. Flooding tolerance: suites of plant traits in variable environments / T. D. Colmer, L. Voeselek // *Functional Plant Biology*. – 2009. – V. 5. – P. 665-681.
14. Coumou, D. A decade of weather extremes / Coumou, D., S. Rahmstorf // *Nat. Clim. Change*, 2012. – V. 2. – P. 491-96.
15. Cuc, L. M. Application of marker assisted backcrossing to introgress the submergence tolerance QTL SUB1 into the Vietnam elite rice variety-AS996 / L. M. Cuc, , L. T. N. Huyen, P. T. M. Hien, V. Hang, N. Q. Dam, P. T. Mui, V. D. Quang, A. M. Ismail, L. H. Ham // *Am J Plant Sci*. – 2012. – V. 3. – P. 528-536.
16. Das, P. Understanding salinity responses and adopting “omics-based” approaches to generate salinity tolerant cultivars of rice / P. Das, K. K. Nutan, S. L. Singla-Pareek and A. Pareek // *Frontiers Plant Sci*. – 2015. DOI: 10.3389/fpls.2015.00712.
17. Fukao, T. The submergence tolerance regulator sub1a mediates crosstalk between submergence and drought tolerance in rice / T. Fukao, El. Yeung, and J. Bailey-Serres // *The Plant Cell*. – 2011. – V. 23. – P. 412–427.
18. Fukao, T. Submergence tolerance conferred by Sub1A is mediated by SLR1 and SLRL1 restriction of gibberellin responses in rice / T. Fukao and J. Bailey-Serres // *PNAS*. – 2008. – V. 105 (43). – P. 16814–16819.
19. Fukao, T. A variable cluster of ethylene response factor-like genes regulates metabolic and developmental acclimation responses to submergence in rice / T. Fukao, K. Xu, P. C. Ronald, J. Bailey-Serres // *Plant Cell*. 2006. – V. 5. – P. 2021-2034.
20. Greenway, H. Conditions leading to high CO₂ (> 5 kPa) in waterlogged-flooded soils and possible effects on root growth and metabolism / Greenway H, Armstrong W, Colmer TD // *Annals of Botany*. 2006. – V. 5. – P. 9-32.
21. Hattori, Y. The ethylene response factors SNORKEL1 and SNORKEL2 allow rice to adapt to deep water / Hattori, Y, Nagai K, Furukawa S, Song XJ, Kawano R, Sakakibara H, Wu J, Matsuoka T, Yoshimura A, Kitano H, Matsuoka M, Mori H, Ashikari M. // *Nature*. – 2009. – V. 5. – P. 1026-1030.
22. Hattori, Y. A major QTL confers rapid internode elongation in response to water rise in deepwater rice / Y. Hattori, K. Miura, K. Asano, E. Yamamoto, H. Mori, H. Kitano et al. // *Breed Sci*. – 2007. – V. 57(4). – P. 305-314.
23. Hattori, Y. Mapping of three QTLs that regulate internode elongation in deepwater rice / Y. Hattori, K. Nagai, H. Mori, H. Kitano, M. Matsuoka, M. Ashikari // *Breed Sci*. – 2008. – V. 58(1). – P. 39-46.
24. Hattori, Y. Rice growth adapting to deepwater / Y. Hattori, K. Nagai, M. Ashikari // *Current Opinion in Plant Biology*. – 2011. – V. 5. – P. 100-105.
25. Hoang, T.M.L. Development of salinity tolerance in rice by constitutive-over expression of genes involved in the regulation of programmed cell death / T. M. L. Hoang, L. Moghaddam, B. Williams, H. Khanna and J. Dale et al.// *Frontiers Plant Sci*. – 2015. DOI: 10.3389/fpls.2015.00175
26. Jackson, M. B. Formation of aerenchyma and the processes of plant ventilation in relation to soil flooding and submergence / M. B. Jackson, W. Armstrong // *Plant Biology*. – 1999. – V. 5. – P. 274–287.
27. Jiang, L. Analysis of QTLs for seed low temperature germinability and anoxia germinability in rice (*Oryza sativa* L.) / L. Jiang, S. Liu, M. Hou, J. Tang, L. Chen, H. Zhai & J. Wan // *Field Crops Research*. –2006. – V. 98(1). – P. 68-75.

28. Jung, K.-H. The submergence tolerance regulator sub1a mediates stress-responsive expression of ap2/erf transcription factors / K.-H. Jung, Y.-S. Seo, H.Walia, P. Cao, T. Fukao, P. E. Canlas, F. Amonpant, J. Bailey-Serres, and P. C. Ronald // *Plant Physiology*. – 2010. – V. 152. – P. 1674-1692.
29. Khanh, T. D. Rapid and high-precision marker assisted backcrossing to introgress the SUB1 QTL into the Vietnamese elite rice variety / T. D. Khanh, L. H. Linh, T. H. Linh, L. H. Ham, T. D. Xuan // *J. Plant Breed. Crop. Sci.* – 2013. – V. 5. – P. 26-33.
30. Kumar, V. Genome-wide association mapping of salinity tolerance in rice (*Oryza sativa*) / V. Kumar, A. Singh, S. V. A. Mithra, S. L. Krishnamurthy and S. K. Parida et al., // *DNA Research: An Int. J. Rapid Pub. Reports Genes Genomes*. – 2015. – V. 22. – P. 133-145.
31. Lang, N. T. Marker-assisted backcrossing (mab) for rice submergence tolerance in Mekong delta / N. T. Lang, N. V. Tao, B. C. Buu // *Omonrice*. – 2011. – V. 18. – P. 11-21.
32. Lee, Y. Expression of β -expansins is correlated with internodal elongation in deepwater rice / Y. Lee, H. Kende // *Plant Physiol.* – 2001. – V. 127(2). – P. 645-654.
33. Linh, T.-H. Improving submergence tolerance of vietnamese rice cultivar by molecular breeding / T.-H. Linh, L.-H. Linh, D.-T. K. Cuc, L.-H. Ham and T.-D. Khanh // *J. Plant Breed. Genet.* – 2013. – V. 01 (03). – P. 157-168.
34. Mickelbart, M. V. Genetic mechanisms of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability / M. V. Mickelbart, P. M. Hasegawa and J. Bailey-Serres // *Nature Reviews Genetics*. – 2015. – P. 1-15.
35. Nagai, K. Stunt or elongate? Two opposite strategies by which rice adapts to floods / Nagai, K, Hattori Y, Ashikari M. // *Journal of Plant Research*. – 2010. – V. 5. – P. 303–309.
36. Nandi, S. Mapping QTLs for submergence tolerance in rice by AFLP analysis and selective genotyping / S. Nandi, P. K. Subudhi, D. Senadhira, N. L. Manigbas, S. Sen-Mandi, N. Huang // *Molecular and General Genetics*. – 1997. – V. 255. – P. 1–8.
37. Neeraja, C. N. A marker-assisted backcross approach for developing submergence-tolerant rice cultivars / C.N. Neeraja, R. Maghirang-Rodriguez, A. Pamplona, S. Heuer, B. C. Y. Collard, E. M. Septiningsih, G. Vergara, D. Sanchez, K. Xu, A. M. Ismail, D. J. Mackill // *Theor Appl Genet.* – 2007. – V. 115. – P. 767-776.
38. Niroula, R. K. SUB1A-dependent and -independent mechanisms are involved in the flooding tolerance of wild rice species / R. K. Niroula, C. Pucciariello, V. T. Ho, G. Novi, T. Fukao and P. Perata // *The Plant Journal*. – 2012. – V. 72. – P. 282-293.
39. Nishiuchi, S. Mechanisms for coping with submergence and waterlogging in rice / S. Nishiuchi, T. Yamauchi, H. Takahashi, L. Kotula, M. Nakazono // *Rice*. – 2012. – V. 5(1). – P. 2.
40. Pedersen, O. Surviving floods: leaf gas films improve O₂ and CO₂ exchange root aeration, and growth of completely submerged rice / O. Pedersen, S. M. Rich, T. D. Colmer // *Plant Journal*. – 2009. – V. 5. – P. 147-156.
41. Rao, G. J. N. Molecular breeding to improve plant resistance to abiotic stresses / Rao, G. J. N., Reddy, J. N., Variar, M., & Mahender, A. // *Advances in plant breeding strategies: Agronomic, abiotic and biotic stress traits*. – 2016. – P. 283-326.
42. Sarkar, R. K. Performance of submergence tolerant rice genotypes carrying the Sub1 QTL under stressed and non-stressed natural field conditions / R. K. Sarkar, D. Panda, J. N. Reddy, S. S. C. Patnaik, D. J. Mackill, and A. M. Ismail // *Indian Journal of Agricultural Science*. – 2009. – V. 79. – P. 876-883.
43. Sauter, M. Internodal elongation and orientation of cellulose microfibrils and microtubules in deepwater rice / M. Sauter, R.W. Seagull, H. Kende // *Planta*. – 1993. – V. 5. – P. 354-362.
44. Septiningsih, E. M. Accelerating the development of new submergence tolerant rice varieties: the case of Ciherang-Sub1 and PSB Rc18-Sub1 / E. M. Septiningsih, N. Hidayatun, D. L. Sanchez, Y. Nugraha, J. Carandang, A. M. Pamplona, B. Y. C. Collard, A. M. Ismail, and D. J. Mackill // *Euphytica*. – 2015. – V. 202. – P. 259-268.
45. Septiningsih, E. M. Development of submergence-tolerant rice cultivars: the Sub1 locus and beyond / E. M. Septiningsih, A. M. Pamplona, D. L. Sanchez, C. N. Neeraja, G. V. Vergara, S. Heuer, A. M. Ismail and D. J. Mackill // *Annals of Botany*. – 2009. – V. 103. – P. 151-160.
46. Septiningsih, E. M. Identifying novel QTLs for submergence tolerance in rice cultivars IR72 and Madabaru / E. M. Septiningsih, D. L. Sanchez, N. Singh, P. M. D. Sendon, A. M. Pamplona, S. Heuer, D. J. Mackill // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2012. – V. 124. – P. 867-874.
47. Septiningsih, E. M. Anaerobic germination-tolerant plants and related materials and methods / E. M. Septiningsih, T. Kretzschmar. – 2015. – WO 2015087282 A1.
48. Septiningsih, E. M. QTL mapping and confirmation for tolerance of anaerobic conditions during germination derived from the rice landrace Ma-Zhan Red / Septiningsih, EM, Ignacio JCI, Sendon PMD, Sanchez DL, Ismail AM, Mackill DJ. // *Theor Appl Genet.* – 2013. – V. 126(5). – P. 1357-1366.
49. Singh, S. Responses of SUB1 rice introgression lines to submergence in the field: Yield and grain quality / S. Singh, D. J. Mackill, and A. M. Ismail // *Field Crops Research*. – 2009, – V. 113. – P. 12-23.
50. Singh, N. Molecular marker survey and expression analyses of the rice submergence-tolerance gene SUB1A / N. Singh, TTM Dang, G. V. Vergara, D. M. Pandey, D. Sanchez, C. N. Neeraja, E. M. Septiningsih, M. Mendiolo, E. M. Tecson-Mendoza, A. M. Ismail, D. J. Mackill, S. Heuer // *Theor Appl Genet.* – 2010. – V. 121(8). – P. 1441-53.
51. Steffens, B. Aerenchyma formation in the rice stem and its promotion by H₂O₂ / Steffens, B, Geske T, Sauter M. // *New Phytologist*, 2011. – V. 5. – P. 369–378.
52. Steffens, B. Interactions between ethylene, gibberellin and abscisic acid regulate emergence and growth rate of adventitious roots in deepwater rice / B. Steffens, J. Wang, M. Sauter // *Planta*. – 2006. – V. 5. – P. 604-612.

53. Toledo, A. Septiningsih Development of Improved Ciherang-Sub1 Having Tolerance to Anaerobic Germination Conditions / A. M.I.U. Toledo, J. C. I. Ignacio, C. Casal Jr., Z.J. Gonzaga, M. S. Mendiolo, E. M. Septiningsih // *Plant Breed. Biotech.* – 2015. – V. 3(2). – P. 77-87.
54. Toojinda, T. Molecular genetics of submergence tolerance in rice: QTL analysis of key traits / Toojinda, T, Siangliw M, Tragoonrung S. VanavichitA // *Annals of Botany.* – 2003. – V. 91. – P. 243- 253
55. Usatov, A. V. DNA-markers of sunflower resistance to the downy mildew (*Plasmopara Halstedii*) / A. V. Usatov, A. I. Klimenko, K. V. Azarin, O. F. Gorbachenko, N. V. Markin, V. E. Tikhobaeva, Yu. A. Kolosov, O. A. Usatova, S. Yu. Bakoev, S. Yu. Bibov, M.Yu. Getmantseva // *American Journal of Biochemistry and Biotechnology.* – 2014. – V. 10 (2). – P. 136-140.
56. Usatov, A. V. Introgression the SalTol QTL into the Elite Rice Variety of Russia by Marker-Assisted Selection / A. V. Usatov, P. I. Alabushev, K. V. Kostylev, M. S. Azarin, Makarenko and O. A. Usatova // *American Journal of Agricultural and Biological Sciences.* – 2015. – V. 10(4). – P. 165-169.
57. Winkel, A. Leaf gas films of *Spartina anglica* enhance rhizome and root oxygen during tidal submergence / A. Winkel, T. D. Colmer, O. Pedersen // *Plant, Cell and Environment.* – 2011. – V. 5. – P. 2083-2092.
58. Xu, K. Sub1A is an ethylene response factor-like gene that confers submergence tolerance to rice / K. Xu, X. Xia, T. Fukao, P. Canlas, R. Maghirang-Rodriguez, S. Heuer, A. I. Ismail, J. Bailey-Serres, P. C. Ronald, D. J. Mackill // *Nature.* – 2006. – V. 442. – P. 705-708.
59. Xu, K. A major locus for submergence tolerance mapped on rice chromosome 9 / K. Xu, D. J. Mackill // *Molecular Breeding.* – 1996. – V. 5. – P. 219-224.
60. Zhang, M. Association mapping reveals novel genetic loci contributing to flooding tolerance during germination in indica rice / M. Zhang, Q. Lu, W. Wu, X. Niu, C. Wang, Y. Feng, X. Wei, // *Frontiers in Plant Science.* – 2017. – P. 1-11

Кирилл Витальевич Азарин

E-mail: azkir@rambler.ru,

Kirill V. Azarin,**Александр Вячеславович Усатов**

E-mail: usatova@mail.ru,

Академия биологии и биотехнологии, Южный федеральный университет,
 Просп. Стачки, 194, Ростов-на-Дону, 344090,
 Россия,

Alexander V. Usatov

Professor,

Academy of Biology and Biotechnology, Southern Federal University,
 194/1 Stachki prospect, 344090, Rostov-on-Don,
 Russia

Павел Иванович Костылев

Зав. лабораторией селекции и семеноводства риса

E-mail: p-kostylev@mail.ru,

ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»,
 Научный городок, 3, г. Зерноград, Ростовская обл.,
 347740, Россия

Pavel I. Kostylev

Head Laboratory of Rice Selection and Seed Growing,

FSBSI Agrarian Scientific Center "Donskoy",

3 Nauchny Gorodok, Zernograd, Rostov Region,
 347740, Russia