

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное  
учреждение высшего образования  
«ЮЖНЫЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

*На правах рукописи*

**ЧЕРТКОВА НАТАЛЬЯ ГРИГОРЬЕВНА**

**СОЗДАНИЕ С ПОМОЩЬЮ ДНК–МАРКЕРОВ СЕЛЕКЦИОННЫХ  
ОБРАЗЦОВ РИСА, УСТОЙЧИВЫХ К АБИОТИЧЕСКИМ ФАКТОРАМ  
СРЕДЫ**

*1.5.7. Генетика (биологические науки)*

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Ростов–на–Дону – 2025

Работа выполнена на кафедре генетики Академии биологии и биотехнологии имени Д.И. Ивановского Южного федерального университета и в лаборатории клеточной селекции Федерального государственного бюджетного учреждения «Аграрный научный центр «Донской».

**Научный руководитель:** **Усатов Александр Вячеславович**

доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет» Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, кафедра генетики, профессор

**Официальные  
оппоненты:**

**Дубина Елена Викторовна**

доктор биологических наук, профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр риса», лаборатория информационных, цифровых и биотехнологий, заведующая

**Хатефов Эдуард Балилович**

доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский научно-исследовательский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», отдел генетических ресурсов крупяных культур, ведущий научный сотрудник

Защита состоится «**24**» **сентября 2025** года в **14:00** на заседании диссертационного совета ЮФУ801.01.07 по биологическим наукам на базе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1, к. 712.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке им. Ю.А.Жданова Южного федерального университета по адресу: г. Ростов-на-Дону, ул. Зорге, д. 21-Ж, 2 этаж и на сайте Южного федерального университета (<https://hub.sfedu.ru/diss/show/1340255/>).

Автореферат разослан «    » \_\_\_\_\_ 2025 г.

Отзыв на автореферат в 2-х экз. (с указанием даты, полностью ФИО, учёной степени со специальностью, звания, организации, подразделения, должности, адреса, телефона, e-mail), заверенный печатью организации, просим направлять по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1, к. 106, ученому секретарю диссертационного совета ЮФУ801.01.07 Бутенко Е.В., а также в формате .pdf на e-mail: [evbutenko@sfedu.ru](mailto:evbutenko@sfedu.ru).

Ученый секретарь  
Диссертационного совета  
ЮФУ801.01.07,  
кандидат биологических наук

Бутенко Елена Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Рис (*Oryza sativa* L.) – это важнейшая злаковая и продовольственная культура, которая служит богатым источником углеводов и используется в диетическом питании большей частью населения Земли. Рис – очень чувствительная к условиям выращивания культура, которая предъявляет определённые требования к температуре, влаге и почве. В нашей стране рис выращивают на севере его мирового ареала.

В мире рис выращивается на площади около 170 млн. га, основные территории риса сосредоточены в Азии и Африке, а в России на площади около 207 тыс. га, основные территории сосредоточены в Краснодарском крае и Ростовской области. С каждым годом площади посева под этой культурой сокращаются из-за ухудшения пригодности сельскохозяйственных угодий, т.к. значительная их часть осложнена неблагоприятными почвенными условиями. В нашей стране одними из главных факторов, которые могут сокращать урожайность и ухудшать его качество, являются сорные растения и засоленные почвы. Эти причины могут приводить к снижению урожайности риса до 80%. Применение химических препаратов в борьбе с сорняками иногда малоэффективно и нерентабельно, а также приводит к химическому загрязнению воды в оросительных системах и природных водоемах. Оптимальным решением возникших проблем является выращивание сортов, устойчивых к абиотическим факторам среды, которые помогут снизить потери урожаев, материальные затраты на химическую защиту, тем самым сократить загрязнение окружающей среды.

Актуальность работы обусловлена повышением эффективности создания новых продуктивных сортов и гибридов риса для культивирования их в конкретных агроэкологических условиях. Одним из ключевых моментов при создании новых высокоурожайных сортов, является длительность и трудоемкость традиционных селекционных методов, которые по-прежнему широко применяются в нашей стране. Отбор исходного материала по фенотипу и создание на их основе сортов с комплексом хозяйственно ценных признаков и генетической устойчивостью к абиотическим факторам среды может занимать порядка 10–15 лет. В связи с этим особое значение приобретает внедрение в классическую селекцию молекулярно-генетических и биотехнологических методов, таких как ДНК-маркирование признаков и андрогенез *in vitro*, которые помогут сократить сроки селекционного процесса.

ДНК-маркеры обладают рядом преимуществ перед морфологическими и физиологическими признаками, не подвержены селекционному давлению, равномерно распределены по всему геному и обладают высоким полиморфизмом. Маркерная селекция существенно оптимизирует процедуру выведения новых сортов, повышая эффективность и сокращая сроки отбора растений, обладающих желаемыми генетическими признаками и возможностью создания их за 6–8 лет.

Другой подход ускорения селекционного процесса – андрогенез *in vitro*. Главным преимуществом метода является получение гомозиготных линий с важнейшими генетическими и фенотипическими особенностями за 1–2 года. Внедрение выше перечисленных технологий в классическую селекцию позволит повысить эффективность и сократит сроки создания новых востребованных сортов собственной селекции.

**Степень разработанности темы.** Исследованиями, посвященными изучению генетического разнообразия генов устойчивости к абиотическим и биотическим стресс-факторам, качества зерна вида *Oryza sativa* L., занимаются множество ученых, как российских, так и зарубежных. Множество исследований проводятся с применением биотехнологических методов (андрогенез *in vitro*) для получения дигаметоидных генотипов риса. В настоящее время геном риса полностью секвенирован, созданы базы данных с последовательностями нуклеотидов, что значительно облегчает изучение генов устойчивости с применением молекулярно-генетических методов.

**Объект исследования.** Объектом исследования служили коллекционные образцы риса селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» (г. Зерноград) Боярин, Контакт, Кубояр, Степняк,

Командор, Бахус, Магнат, Южанин, Кубань-3 и ФГБНУ «ФНЦ риса» (г. Краснодар) сорт Новатор, зарубежные сорта устойчивые к глубоководному затоплению IR-64, TDK-1, CR-1009, Swarna, Mazhan Red, Khan Dan, BR-11, Inbara-3, Kharsu 80A, Khao Hlan On и хлоридному засолению IR74099, R21(IR86385), R26(IR86385), R20(IR86385), R17(IR86385), FL-478, IR527132B, Pokkali, а также гибриды, полученные в результате скрещивания сортов отечественной и зарубежной селекции.

**Цель исследования.** Создать на основе ДНК–маркирования и андрогенеза *in vitro* селекционные образцы риса, устойчивые к глубоководному затоплению и хлоридному засолению, и провести их оценку в полевых условиях по комплексу хозяйственно ценных признаков.

**Задачи исследования.**

1. На основе лабораторных и полевых испытаний из коллекции «АНЦ «Донской» выделить высокопродуктивные отечественные сорта риса и зарубежные доноры устойчивости к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.
2. Определить информативность ДНК–маркеров устойчивости риса к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.
3. Провести гибридизацию между отечественными высокопродуктивными сортами и зарубежными сортами устойчивыми к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.
4. Отобрать с помощью ДНК–маркеров гибридные комбинации риса, устойчивые к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.
5. С помощью андрогенеза *in vitro* и ДНК–маркирования создать дигаплоидные линии риса, устойчивые к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.
6. Оценить устойчивые гибридные комбинации риса по комплексу хозяйственно ценных признаков в полевых условиях.

**Научная новизна исследования.** Впервые на основе ДНК–маркирования, при скрещивании высокопродуктивных отечественных сортов с зарубежными донорными сортами, созданы гибриды риса с генами устойчивости к глубоководному затоплению *Sub1*, *SK1*, *SK2*, *AG1*, *AG2* и хлоридному засолению *Saltol*, *SKC1*, *SNC*. Методически оптимизирован метод андрогенеза *in vitro* для получения дигаплоидных линий риса. Впервые, на основе метода андрогенеза *in vitro* и ДНК–маркирования, созданы дигаплоидные линии риса устойчивые к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.

**Теоретическая и практическая значимость.** В результате исследования отобраны информативные ДНК–маркеры признака устойчивости риса к глубоководному затоплению и хлоридному засолению. Созданные в ходе работы гибриды и дигаплоидные линии риса на основе селекционного материала отечественных сортов и зарубежных доноров признака устойчивости к глубоководному затоплению и хлоридному засолению, представляют собой перспективный исходный материал для дальнейшей селекционной работы.

**Методология и методы исследования.** Настоящее исследование проводили на кафедре генетики Академии биологии и биотехнологии имени Д.И. Ивановского ЮФУ (Ростов–на–Дону) и в лаборатории клеточной селекции Федерального государственного бюджетного учреждения «АНЦ «Донской» (г. Зерноград). Выделение геномной ДНК из растительной ткани растений риса осуществляли с помощью СТАВ метода с нашими модификациями (Маркин, 2006). Оценку количества и качества выделенной ДНК проводили на спектрофотометре Implen Nanophotometr NP80. Амплификация осуществлялась в 96-луночных планшетах в термоциклере Rotorgene 6000 (Corbett Research, Австралия) и C1000 Touch (Thermal Cycler, США). Амплификационные продукты подвергали электрофорезу в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Гель фотодокументировали в трансиллюминаторе под УФ-светом с помощью видеосистемы GelDoc 2000 (BioRad, США). Электрофореграммы анализировали при помощи программы Bio-Rad ImageLab 6.0. Праймерные пары маркеров с последовательностями олигонуклеотидов, комплементарные участкам генов устойчивости к глубоководному затоплению *Sub1*, *SK1*, *SK2*, *AG1*, *AG2* и к хлоридному засолению *Saltol*, *SKC1*, *SNC* отбирали

по литературным данным и базы данных Национального центра биотехнологической информации ([www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)). Праймеры синтезированы ЗАО «Евроген» (г. Москва). Морфологический и физиологический скрининг устойчивости к глубоководному затоплению у риса, проводили в лабораторных опытах и оранжерейных условиях, рассчитывали % выживаемости. Оценку устойчивости к хлоридному засолению селекционного материала риса проводили способом проращивания зерен в течение 14 дней в растворе воды с добавлением соли (NaCl) в концентрациях 1,0% и 1,5%, рассчитывали показатель скорости роста (длину ростка и корня) и % всхожести семян. Растительный материал (метелки риса), отобранный для метода культуры пыльников *in vitro* (андрогенез *in vitro*), стерилизовали по методике Бутенко Р.Г. (1964). Фенологические наблюдения и оценку морфо-биологических признаков и свойств растений риса проводили по методическим указаниям ВИР и классификатору рода *Oryza* L. (1982). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Excel пакета Microsoft Office, анализ корреляционных и регрессионных методов, построение гистограмм в программном пакете STATISTICA 6. Рассчитывали показатели стандартного отклонения выборки; коэффициента вариации; частоту рекомбинации; стандартную ошибку средней ( $\pm$ SEM) для определения содержания ядерной ДНК; достоверные отличия по сравнению с контролем при уровне значимости  $p < 0,05$  – с помощью t-критерия Стьюдента.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. В результате гибридизации высокопродуктивных отечественных сортов риса с зарубежными сортами, устойчивыми к глубоководному затоплению, с применением информативных ДНК-маркеров, получены гибридные комбинации риса устойчивые к данному стресс-фактору и комплексом хозяйственно ценных признаков.
2. В результате скрещивания высокопродуктивных отечественных сортов с зарубежными образцами, устойчивыми к хлоридному засолению, с применением информативных ДНК-маркеров, получены гибриды риса, устойчивые к данному стресс-фактору и обладающие комплексом хозяйственно ценных признаков.
3. Оптимизирована методика создания дигаплоидных линий риса, с помощью которой получены гомозиготные формы, устойчивые к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.

**Степень достоверности и апробация диссертации.** Достоверность выводов и научных положений диссертации обеспечена применением классических методов селекции с внедрением современных молекулярно-генетических и биотехнологических подходов (андрогенез *in vitro*) для создания новых сортов риса, устойчивых к абиотическим факторам среды. Результаты диссертационного исследования были представлены на 16 международных и всероссийских конференциях: Международная научная конференция, посвящённая 95-летию Ботанического сада ЮФУ «Биологическое разнообразие и биоресурсы степной зоны в условиях изменяющегося климата» (24–29 мая 2022 г., г. Ростов-на-Дону); V Международная научная конференция «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы» посвященная 135-летию со дня рождения Н.И. Вавилова (21–25 ноября 2022 г., Санкт-Петербург); 25 Межвузовская студенческая научная конференция «Студент–Исследователь–Учитель» РГПУ им. А.И. Герцена (3–17 апреля 2023 г., г. Санкт-Петербург); Всероссийская (национальная) научно-практическая конференция «Научно-техническое обеспечение АПК Юга России» (16 мая 2023 г., г. Зерноград, Ростовская область); II Международная молодёжная конференция «Генетические и радиационные технологии в сельском хозяйстве» (19–20 октября 2023, г. Обнинск); X Международная конференция «Инновационные разработки молодых ученых – развитию агропромышленного комплекса» (27 октября 2023 г., г. Ставрополь); Всероссийская научно-практическая конференция Кубанского отделения ВОГиС «Генетический потенциал сельскохозяйственных растений и его реализация в селекции, семеноводстве и размножении» (14 февраля 2024 г., г. Краснодар); XX Всероссийская ежегодная молодежная научная конференция с международным участием «Наука Юга России: достижения и перспективы» (15–26 апреля 2024 г., г. Ростов-на-Дону); Всероссийская (национальная) научно-практическая конференция, посвященная 300-летию Российской

академии наук «Научно–техническое обеспечение АПК Юга России» (15–24 мая 2024 г., г. Зерноград, Ростовская область); VI Международная научно–практическая конференция, посвященная 300-летию Российской академии наук «Проблемы и перспективы научно–инновационного обеспечения агропромышленного комплекса» (26–28 июня 2024 г., г. Курск); III Международная молодежная конференция «Генетические и радиационные технологии в сельском хозяйстве» (23–24 октября 2024 г., г. Обнинск); XI международная конференция «Инновационные разработки молодых учёных – развитию агропромышленного комплекса» (5–6 декабря 2024 г., г. Михайловск, Ставропольский край); Международная научно–практическая конференция «Аграрная наука и производство: новые подходы и актуальные исследования» (11–13 февраля 2025 г., пос. Персиановский, Ростовская область); 2–я Всероссийская научно–практическая конференция молодых ученых, посвященная дню Российской науки «Актуальные исследования молодых ученых – результаты и перспективы» (12 февраля 2025 г., г. Благовещенск, Амурская область); Международная научно–практическая конференция «Современные проблемы изучения вредных организмов с целью повышения урожайности культур, получения экологически безопасной продукции и подготовки специалистов по защите растений», посвященная 110–летию со дня рождения доктора биологических наук, профессора Ю.А. Леонтьевой» (20–21 марта 2025 г., г. Кинель, Самарская область); VIII Международная научно–практическая конференция молодых ученых и специалистов «Молодые ученые в аграрной науке» (23–24 апреля 2025 г., г. Луганск, ЛНР).

**Личный вклад автора.** Автор самостоятельно выполнил весь объем полевых и лабораторных работ по теме исследований, а также анализ научной литературы по теме работы, сформулировал цель и задачи исследования, составил схему селекционно–генетических мероприятий. Программа исследования разработана автором на основе предыдущих работ и скорректирована научным руководителем. Отбор селекционных образцов риса, проведение молекулярно–генетических исследований и применение биотехнологических методов (андрогенез *in vitro*) выполнено лично автором. Анализ, обобщение полученных результатов, статистическая обработка данных, формулирование положений, выносимых на защиту и выводов, выполнено автором. Подготовка материала для публикаций по теме диссертации выполнена автором.

**Благодарности.** Автор выражает глубокую признательность за руководство и конструктивную критику научному руководителю профессору кафедры генетики АБиБ ЮФУ д.б.н. Усатову А.В. Автор выражает признательность научным сотрудникам кафедры генетики АБиБ им. Д.И. Ивановского ЮФУ и лаборатории клеточной селекции ЦФНИ ФГБНУ «АНЦ «Донской», всегда готовым поделиться своими знаниями и дать ценные практические рекомендации. Автор благодарен д.с.-х.н., профессору, главному научному сотруднику лаборатории селекции и семеноводства риса, руководителю ЦФНИ ФГБНУ «АНЦ «Донской» Костылеву П.И. за эффективное сотрудничество и любезно предоставленный селекционный материал для выполнения настоящего исследования.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа представлена на 164 страницах машинописного текста и имеет следующую структуру: оглавление, список сокращений, введение, обзор литературы, объекты и методы исследования, результаты и их обсуждение, выводы, список литературы и приложения. Диссертационная работа включает 66 рисунков, 23 таблицы и 3 приложения. Список использованной литературы включает в себя 197 литературных источников, в том числе 144 на иностранных языках.

**Финансовая поддержка работы.** Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РНФ № 22-26-00246 «Изучение локусов количественных признаков, связанных с толерантностью риса к длительному погружению в воду и высокой энергией роста».

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В данной главе представлен анализ научной литературы зарубежных и отечественных авторов, посвященной теме диссертационного исследования. Глава состоит из четырех подглав. В первой подглаве описаны биологические особенности, генетическая изменчивость риса (*Oryza sativa* L.). Во второй подглаве представлен обзор геномных исследований, генов устойчивости и типов адаптации растений риса в условиях глубоководного затопления и хлоридного засоления. В третьей подглаве описываются исследования по применению различных ДНК–маркеров в селекции риса. В четвертой подглаве рассмотрено применение биотехнологических методов, в частности андрогенеза *in vitro*, для создания гомозиготного селекционного материала растений риса.

### ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве исходного материала в исследовании использовались коллекционные образцы риса, любезно предоставленные ФГБНУ «АНЦ «Донской» (г. Зерноград), ФГБНУ «ФНЦ риса» (г. Краснодар), Институтом сельскохозяйственной генетики, Ханой, Вьетнам (Agricultural Genetics Institute, Hanoi, Vietnam), а также гибриды, полученные в результате скрещивания сортов отечественной и зарубежной селекции. В качестве источников потенциально важных гаплотипов в работе были исследованы вьетнамские линии, устойчивые к глубоководному затоплению и хлоридному засолению. Гибридизацию селекционных образцов и отбор растительного материала (метелкок риса) для введения в культуру пыльников *in vitro* проводили на полях лаборатории селекции и семеноводства Обособленного подразделения «Пролетарское» АНЦ «Донской» (Пролетарск, Ростовская область).

**Молекулярно-генетические методы.** Выделение геномной ДНК из растительной ткани проводили с помощью детергента СТАВ с нашими модификациями. Оценку количества и качества выделенной ДНК выполняли на спектрофотометре Implen Nanophotometr NP80. Амплификация осуществлялась в 96-луночных планшетах в термоциклере Rotorgene 6000 (Corbett Research, Австралия) и С1000 Touch (Thermal Cycler, США). Температурно–временной режим для каждой пары праймеров подбирали индивидуально с учетом их нуклеотидной последовательности. Амплификационные продукты подвергали электрофорезу в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Гель фотодокументировали в трансиллюминаторе под УФ-светом с помощью видеосистемы GelDoc 2000 (BioRad, США). Электрофореграммы анализировали при помощи программы Bio-Rad ImageLab 6.0. Праймерные пары маркеров с последовательностями олигонуклеотидов, комплементарные участкам генов *Sub1*, *SK1*, *SK2*, *AG1*, *AG2*, *Saltol*, *SKC1* и *SNC* отбирали по литературным данным и базы данных Национального центра биотехнологической информации ([www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)). Праймеры синтезированы ЗАО «Евроген» (г. Москва).

**Лабораторные методы.** Определение устойчивости риса к глубоководному затоплению проводили способом проращивания зерен под слоем воды в пробирках и аквариуме высотой 15 и 50 см, соответственно. Динамику роста побегов оценивали измерением длины coleoptеля на 5–ые, 7–ые, 9–ые, 12–ые и 14–ые сутки, затем рассчитывали % выживаемости.

Оценку устойчивости к хлоридному засолению риса проводили способом проращивания зерен в растворе воды с добавлением соли (NaCl) в концентрациях 1,0% и 1,5%. Через 14 дней проводили измерения длины корней и ростков, а также рассчитывали показатель скорости роста (длину ростка и корня) и % всхожести.

**Метод культуры пыльников (андрогенез *in vitro*).** Растительный материал (метелки риса) отбирали с главных побегов находящиеся в стадии одноядерной пыльцы. Стерилизацию проводили по методике Бутенко Р.Г. (1964). Инокулирование пыльников, пересадка каллусов и растений проводилась в асептических условиях ламинарного бокса. Проводили приготовление оптимизированных по уровню гормонов питательных сред Блейдса; Мурасиге и Скуга.

**Полевые эксперименты и характеристика гибридов риса по комплексу хозяйственно ценных признаков.** Посев риса осуществляли в коллекционном, гибридном и селекционном питомниках вручную под маркер с междурядьями 30 см. Площадь делянки составляла 0,6 м<sup>2</sup>, норма высева 120-150 зерен, глубина заделки 0,5–1 см и через 20 номеров размещали стандарт. Фенологические наблюдения и оценку морфо–биологических признаков и свойств растений (продолжительность вегетационного периода (дни); высота растений (см); длина метелки (см); количество зерен в метелке (шт.); масса 1000 зерен (г)) проводили по методическим указаниям ВИР и классификатору рода *Oryza* L. (1982). Гибридизация растений риса осуществлялась в условиях пленочной теплицы с контролем температуры воздуха (не выше 25–30°C) и относительной влажностью 80–90%. Кастрация цветков риса выполнялась в утренние часы. Пыльники удаляли вакуумным носом «Вакуум-pumpe DS–8» оборудованным стеклянными пипетками с резиновыми трубками. Опыляли метелки риса «Твелл-методом», т.е. путем встряхивания пыльцы с другого родительского растений. Уборка растений выполнялась ручным способом в фазу полного созревания зерна.

**Методы статистической обработки.** Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы Excel пакета Microsoft Office, анализ корреляционных и регрессионных методов, построение гистограмм в программном пакете STATISTICA 6. Вычисляли показатели стандартного отклонения выборки, коэффициента вариации, частоту рекомбинации, стандартную ошибку средней ( $\pm$ SEM) для определения содержания ядерной ДНК. Достоверные отличия по сравнению с контролем при уровне значимости  $p < 0,05$  рассчитывали с помощью t-критерия Стьюдента.

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1 Отбор исходного материала риса для скрещивания и ДНК–маркеров устойчивости к глубоководному затоплению и хлоридному засолению

При внедрении в классическую селекцию молекулярно–генетических методов первостепенное значение имеет оценка информативности отобранных ДНК–маркеров ассоциированной с устойчивостью к абиотическим факторам среды и отбор исходного материала из коллекционных образцов с различной степенью полиморфизма. Для проведения молекулярно–генетического анализа по данным литературы и базы данных Национального центра биотехнологической информации ([www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)) отобраны 25 пар ДНК–маркеров (Sub1A(1F1R), Sub1A(2F2R), Sub1A(3F3R), Sub1A203, RM7481, RM519, Sub1A-1(FR), Sub1C173, Sub1B(FR), SK1(1F1R), SK1(1F1R), SK1(2F2R), SK1(2F2R), SK1(3F3R), SK2(1F1R), SK2(1F1R), SK2(2F2R), SK2(2F2R), SK2(3F3R), RM24161, RM44, RM144, RM478, RM541, RM171) генов устойчивости к глубоководному затоплению *Sub1*, *SK1*, *SK2*, *AG1*, *AG2* и 15 пар (RM493, RM237, RM253, RM336, RM585, RM3412, RM5711, RM7075, RM10793, DQ148410, RM327, RM514, qSNC3, RM307, RM122) генов устойчивости к хлоридному засолению *Saltol*, *SKC1*, *SNC*.

Отбор исходного материала риса осуществляли по результатам массового скрининга коллекционных образцов риса в количестве 989 шт. по комплексу хозяйственно ценных признаков: вегетационный период, высота растения, длина метелки, число зерен с 1 метелки, масса 1000 зерен.

Поскольку рис относится к культурам, которые чувствительны к продолжительности дня, в нашем регионе согласно методическим указаниям и классификатору рода *Oryza sativa* L. (1982) приоритетнее выращивать сорта с вегетационным периодом 110–120 дней, с оптимальной высотой растений для комбайнированной уборки 90–110 см, с длиной метелки 14–17 см, с количеством зерен более 120 шт. и массой 1000 зерен более 27 г. В общей сложности по изученным параметрам модельного сорта из коллекции отобрали 10 высокопродуктивных отечественных сортов риса, которые удовлетворяют всем требованиям для культивирования их в агроклиматической зоне Юга России. В таблице 1 представлена характеристика отобранных

образцов риса в качестве исходных форм для гибридизации.

Таблица 1 – Характеристика высокопродуктивных сортов риса селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» и ФГБНУ «ФНЦ риса» по хозяйственно ценным признакам

№	Сорт	Вегетационный период, дней	Высота растений, см	Длина метелки, см	Количество зерен в метелке, шт.	Масса 1000 зерен, г	Урожайность, т/га
1	Контакт	110,5±4,8	97,3±5,5	15,3±0,8	141,1±10,3	29,5±0,9	6,8±0,9
2	Боярин	118,5±3,5	95,2±5,6	14,8±1,4	148,2±10,4	30,9±0,9	7,2±0,6
3	Бахус	115,5±2,9	100,2±6,1	15,0±1,1	144,3±9,5	30,1±1,3	7,9±0,8
4	Южанин	120,2±2,5	99,3±2,9	14,5±1,3	145,5±8,4	29,7±1,7	7,4±0,8
5	Магнат	112,5±5,1	100,2±5,1	15,0±0,5	149,3±10,2	29,9±0,9	6,7±0,9
6	Степняк	113,5±3,5	99,1±3,3	14,7±0,9	147,2±9,6	29,8±1,1	6,7±0,7
7	Кубояр	115,3±2,8	97,4±4,5	14,9±1,2	140,1±9,2	29,6±1,2	7,1±0,8
8	Командор	115,5±2,9	100,2±6,1	15,0±1,1	144,3±9,5	30,1±1,3	6,9±1,1
9	Кубань-3	112,5±4,2	98,2±3,5	14,5±1,3	147,3±8,4	29,7±1,4	6,7±1,4
10	Новатор	111,6±5,3	98,4±3,8	14,7±1,4	147,1±9,8	29,5±1,6	7,1±0,9

Зарубежные сорта–доноры устойчивости к глубоководному затоплению и хлоридному засолению в отличие от сортов отечественной селекции считаются позднеспелыми с вегетационным периодом от 145 до 160 дней, что является препятствием для выращивания их в условиях Ростовской области.

В таблице 2 представлены важнейшие хозяйственно ценные признаки зарубежных сортов риса устойчивых к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.

Таблица 2 – Характеристика сортов–доноров риса Института сельскохозяйственной генетики (Ханой, Вьетнам) по хозяйственно ценным признакам

№	Сорт	Вегетационный период, дней	Высота растений, см	Длина метелки, см	Количество зерен в метелке, шт	Масса 1000 зерен, г
1	IR-64 ( <i>Sub1A</i> )	140,2±4,6	110,2±4,7	25,7±1,1	98,2±10,3	28,3±3,0
2	TDK-1 ( <i>Sub1A</i> )	144,1±5,9	107,2±4,5	23,7±1,9	67,5±12,1	28,8±1,1
3	Khan Dan ( <i>Sub1A</i> )	149,3±5,3	106,2±5,3	23,3±1,7	97,3±12,5	19,3±1,9
4	BR-11 ( <i>Sub1A</i> )	140,4±5,9	110,4±4,8	20,9±1,1	74,3±10,4	27,4±2,0
5	Swarna ( <i>Sub1A</i> )	135,3±5,4	106,2±5,3	22,4±1,8	85,2±11,4	27,6±1,8
6	Inbara-3 ( <i>Sub1A</i> )	140,3±6,5	100,3±5,2	25,2±1,6	95,2±12,1	25,5±1,1
7	CR-1009 ( <i>Sub1A</i> )	145,4±4,9	103,2±6,4	22,8±1,9	68,3±10,2	29,4±1,3
8	Mazhan Red ( <i>SK1,2, AG1,2</i> )	142,2±5,4	134,1±6,7	22,7±1,7	99,2±10,3	27,3±2,0
9	Kharsu 80A ( <i>SK1,2, AG1,2</i> )	140,2±4,4	130,3±5,4	22,4±1,6	68,2±11,1	28,1±1,5

Продолжение таблицы 2.

10	Khao Hlan On ( <i>SKI,2, AG1,2</i> )	145,2±5,3	124,2±5,3	18,3±1,5	108,2±11,3	25,5±1,2
11	IR74099 ( <i>Saltol, SNC, SKCI</i> )	150,1±5,4	122,1±4,2	20,5±1,7	95,2±13,4	21,4±1,9
12	R21(IR86385) ( <i>Saltol, SNC, SKCI</i> )	149,2±4,3	86,2±5,2	19,5±1,3	75,4±10,3	24,5±1,8
13	R26(IR86385) ( <i>Saltol, SNC, SKCI</i> )	140,3±5,8	84,2±5,1	16,3±1,5	89,2±9,8	22,2±1,6
14	R20(IR86385) ( <i>Saltol, SNC, SKCI</i> )	142,2±4,4	79,2±6,2	16,5±1,6	77,3±10,2	26,4±2,0
15	R17(IR86385) ( <i>Saltol, SNC, SKCI</i> )	148,1±6,4	77,3±5,1	18,6±1,7	76,3±11,2	25,7±1,5
16	FL-478 ( <i>Saltol, SNC, SKCI</i> )	138,3±4,3	70,3±4,1	21,5±1,1	104,2±10,7	25,5±1,5
17	IR527132B ( <i>Saltol, SNC, SKCI</i> )	148,2±6,1	113,2±5,3	21,3±1,9	49,4±10,2	20,0±1,4
18	Pokkali ( <i>Saltol, SNC, SKCI</i> )	143,1±5,3	135,3±5,2	16,5±1,9	77,4±10,1	25,9±2,1

В среднем у сортов–доноров продолжительность вегетационного периода составила 143 дня, варьируя от 135 до 150 дней. По высоте растений варьирование составило от 70 (FL–478) до 135 см (Pokkali). Сорты с генами *SNORKEL* и *AG* устойчивости к глубоководному затоплению были более высокорослые в сравнении с донорами солеустойчивости. Сорты–доноры имели длинные метелки в среднем 21 см, варьируя от 16,3 (R26(IR86385)) до 25,7 см (IR–64), что неблагоприятно сказывается на количестве зерен. Выход зерен с 1 метелки был низким и в среднем у сортов составил 83 зерна, варьируя от 49 (IR527132B) до 108 шт. (Khao Hlan On). По массе 1000 зерен максимальные значения наблюдались у сорта CR–1009 (29,4 г).

### 3.2 Определение информативности ДНК–маркеров устойчивости к глубоководному затоплению и хлоридному засолению

В ходе предварительного исследования коллекционных и вьетнамских гаплотипов риса было оценено 40 пар специально подобранных праймеров, ассоциированных с устойчивостью у растений риса к глубоководному затоплению и хлоридному засолению.

**Идентификация в родительских сортах риса генов устойчивости к глубоководному затоплению.** Анализ 25 пар праймеров, ассоциированных с устойчивостью у риса к глубоководному затоплению, показал, что лишь 7 пар обеспечили специфическую и стабильно воспроизводимую амплификацию продукта ДНК ожидаемого размера (таблица 3).

Таблица 3 – Информативные маркеры генов устойчивости к глубоководному затоплению

Ген	Маркер	Последовательность (5'-3')	Размер ампликона, пн
<i>Sub1A</i>	Sub1A203 F	CGGCCTCATCACAATCGGAG	203
	Sub1A203 R	ATGTCCATGTCCATATGTCGTCG	
	RM 7481 F	CGACCCAATATCTTTCTGCC	95
	RM 7481 R	ATTGGTCGTGCTCAACAAG	

Продолжение таблицы 3.

<i>SK1</i>	1F	ATGTGCGGAGGTTGTCTCAT	743
	1R	TCGTAGCGACAGCCGTA CTG	
	2F	ACGGTATCCCTGAACTACTG	210
	2R	TCGTAGCGACAGCCGTA CTG	
<i>SK2</i>	2F	CCC ACTTGCTTGCTCTTGC	305
	2R	GAGTGTGGTGT TTTTCGCAG	
<i>AG1</i> (qAG9-2)	RM 24161 F	GTATGGCGAGACCCTACAGACC	235
	RM 24161 R	GACCCACTTAATGTGT CACAAGG	
<i>AG2</i> (qAG7-1)	RM 478 F	GGGTGGAGTGT AATAATAGCAAGC	400
	RM 478 R	AACACGTCCAAAGTCACAGAGC	

В качестве примера на рисунке 1 представлены результаты ПЦР анализа по идентификации гена *Sub1A* в родительских сортах риса. Ампликон молекулярной массой 203 пн, определяющий доминантную аллель гена *Sub1A* визуализировался только в зарубежных сортах – Khan Dan, Inbara-3, BR-11, Swarna, CR-1009, TDK-1, IR-64 (рисунок 1).

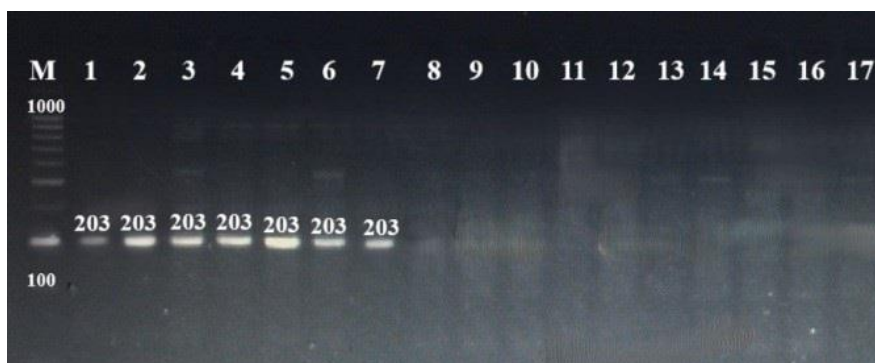


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК зарубежных и отечественных сортов риса с маркером Sub1A203 (ген *Sub1A*)

M – маркер молекулярного веса (100–1000 пн); №1–Khan Dan; №2–Inbara-3; №3–BR-11; №4–Swarna; №5–CR-009; №6–TDK-1; №7–IR-64; №8–Новатор; №9–Контакт; №10–Боярин; №11–Бахус; №12–Южанин; №13–Магнат; №14–Степняк; №15–Кубояр; №16–Командор; №17–Кубань-3

Таким образом, по результатам ДНК-типирования отобранных родительских образцов риса гены *Sub1*, *SK1*, *SK2*, *AG1* и *AG2*, ассоциированные с устойчивостью к глубоководному затоплению, были идентифицированы только в зарубежных сортах.

**Идентификация в родительских сортах риса генов устойчивости к хлоридному засолению.** Молекулярно-генетический анализ по 15 молекулярным маркерам признака устойчивости к хлоридному засолению показало следующие результаты. В результате ДНК-типирования образцов риса информативными оказались всего лишь 3 пары маркеров, которые могут представлять особый интерес в маркер-вспомогательной селекции (таблица 4).

Таблица 4 – Информативные маркеры генов устойчивости к хлоридному засолению

<i>Saltol</i>	RM493 F	TAGCTCCAACAGGATCGACC	211
	RM493 R	GTACGTAAACGCGGAAGGTG	
<i>SKC1</i>	DQ148410F	ACGACGACGAGGCTACTGAT	170
	DQ148410R	GTCGAGACGACGGTGAAGAT	
<i>SNC</i>	qSNC3F	CCTTGCTGT TATTGCTC	200
	qSNC3R	GAGGAGGGGCGAAGATTGA	

В качестве примера, доминантную аллель гена *Saltol* с размером ампликона 211 пн идентифицировали в 5-х зарубежных сортах №1–Pokkali, №3–R17, №4–FL–478, №7–IR52132B, №8–IR74099, из 8-ми отобранных для исследования. У сортов №9–Новатор и №11–Боярин визуализировалась рецессивная аллель размером 170 пн (рисунок 2).

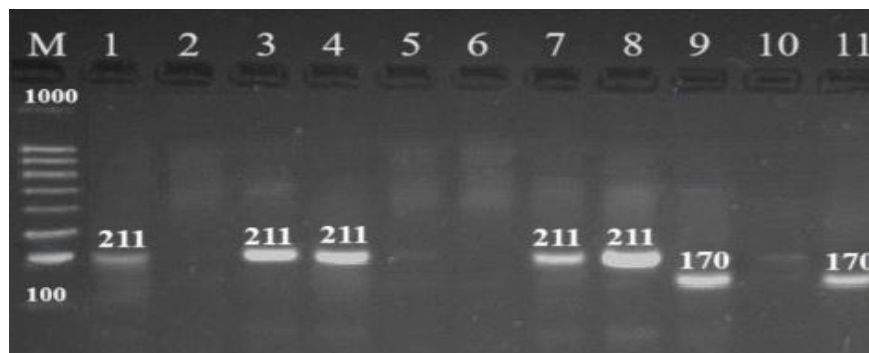


Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК зарубежных и отечественных сортов риса с маркером RM493 (ген *Saltol*)

М–маркер молекулярного веса (100–1000 пн); №1–Pokkali; №2–R20; №3–R17; №4–FL–478; №5–R20; №6–R21; №7–IR52132B; №8–IR74099; №9–Новатор; №10–Контакт; №11–Боярин

Таким образом, по результатам ДНК–типирования отобранных родительских образцов риса гены *Saltol*, *SKC1* и *SNC*, ассоциированные с устойчивостью у риса к хлоридному засолению, были идентифицированы только в зарубежных сортах.

В целях подтверждения информативности системы отобранных генетических маркеров и создание новых сортов риса, устойчивых к глубоководному затоплению и хлоридному засолению, на основе отечественных высокопродуктивных сортов была проведена гибридизация с зарубежными сортами.

### 3.3 Молекулярно-генетический анализ геномной ДНК гибридных генотипов риса

#### 3.3.1 Молекулярно-генетический анализ геномной ДНК гибридного материала риса по устойчивости к глубоководному затоплению

Гибридные растения поколения  $F_1$  имели высокую степень стерильности, поэтому их использовали для получения гибридов следующих поколений. Молекулярно–генетический анализ 386 отобранных из  $F_5$  поколения гибридных образцов, родительские линии которых имели гены устойчивости к глубоководному затоплению, показал следующие результаты, представленные на электрофореграммах. В качестве примера доминантная аллель родительский линий №1–IR–64 и №18–BR–11 выявлена в гомозиготном состоянии у гибридных образцов №4, 7, 29, 30 и 32. Маркер Sub1A 203 демонстрировал доминантный тип наследования гена устойчивости к глубоководному затоплению (рисунок 3).

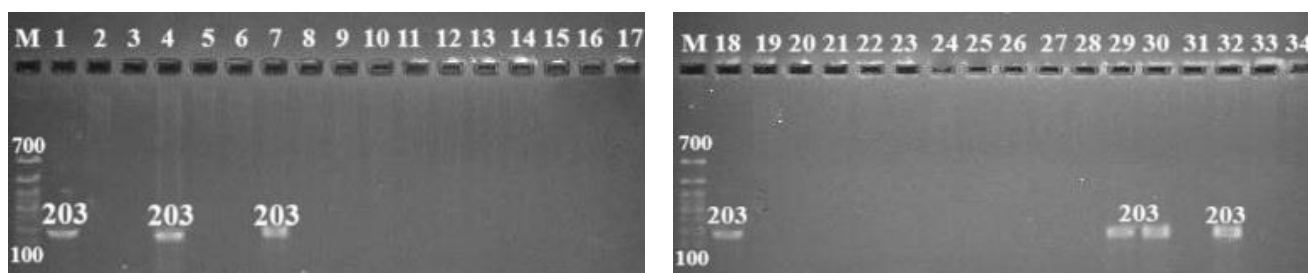


Рисунок 3 – Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК гибридных образцов риса с маркером Sub1A 203(ген *Sub1A*)

М–маркер молекулярного веса (100–700 пн); №1–IR–64 (положительный контроль); №18–BR–11 (положительный контроль); №2–Боярин (отрицательный контроль); №3–34–исследуемые гибридные образцы риса; №4–5578/3(IR–64 x Боярин), №7–5579/2 (IR–64 x Боярин), №29–5618/1(BR–11 x Новатор), № 30–5618/2(BR–11 x Новатор), №32–5618/4(BR–11 x Новатор) – с геном *Sub1A*

Расчет частоты рекомбинации показал значение 2,8% (менее 20%), что свидетельствует о том, что сила сцепления маркера с признаком составляет 2,8 сМ, т.е. сцепленное наследование данного маркера с признаком.

В общей сложности из 386 гибридных линий риса 222 образца имели доминантные аллели генов устойчивости к глубоководному затоплению, что составляет 57,5% от количества изученных. Доминантную аллель гена *Sub1A* унаследовали 42,2% образцов, а гены *SK1*, *SK2*, *AG1* и *AG2* – 14,5%. При этом некоторые гибридные образцы риса унаследовали несколько генов.

### 3.3.2 Молекулярно-генетический анализ геномной ДНК гибридного материала риса по устойчивости к хлоридному засолению

Молекулярно–генетический анализ 99 отобранных гибридных образцов риса из F<sub>5</sub> поколения, родительские линии, которых имели гены солеустойчивости, показал следующие результаты, представленные на электрофореграмме.

В качестве примера на рисунке 4 представлены результаты ПЦР–анализа гибридных генотипов риса при скрещивании солеустойчивого зарубежного сорта IR52713 с отечественным высокопродуктивным сортом Новатор. Доминантная аллель гена *SKC1* визуализировалась у сорта №1–IR52713 и у селекционных образцов под № 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20. Частота рекомбинации составила 1,5%.



Рисунок 4 – Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК гибридов риса с маркером DQ148410 (ген *SKC1*)

М–маркер молекулярного веса (100–1000 пн); №1–IR52713 (положительный контроль); №2–Новатор (отрицательный контроль); №3–22 – исследуемые гибридные образцы риса IR52713 x Новатор; №3–3137; №4–3143; №5–3177; №6–3181; №7–3192; №8–3194; №9–3198; №10–3212; №11–1657; №13–4383; №14–4448; №15–2776; №17–1964; №18–1961; №19–1658; №20–1958 – с геном *SKC1*

По результатам скрининга, основанном на ПЦР анализе маркеров, отобраны гибридные образцы риса, несущие доминантные аллели генов *Saltol*, *SKC1* и *SNC*. Функциональные гены были идентифицированы в 45 гибридных образцах из 99 изученных, что составляет 45,5%. При этом некоторые образцы унаследовали доминантные аллели несколько генов.

### 3.4 Оценка гибридных образцов риса на устойчивость к абиотическим факторам среды

#### 3.4.1 Определение устойчивых к глубоководному затоплению гибридных образцов риса

В целях оценки устойчивости к затоплению у риса разработаны специальные методики, такие как метод регенерации проростков и метод появления всходов. В рамках контроля наследования генов устойчивости к глубоководному затоплению провели оценку гибридных генотипов риса в условиях анаэробного прорастания посредством проращивания зерен в пробирках под слоем воды. Динамику роста контролировали на 5-е, 7-е, 9-е, 12-е и 14-е сутки.

Всхожесть у зерен 386 отобранных гибридных образцов варьировала от 80 до 100%. На 5 сутки большинство изучаемых образцов (71%) имели среднюю длину проростка от 0,1 до 2,0 см, только 6% обладали максимальной средней длиной проростков от 3,0 до 4,0 см (рисунок 5).

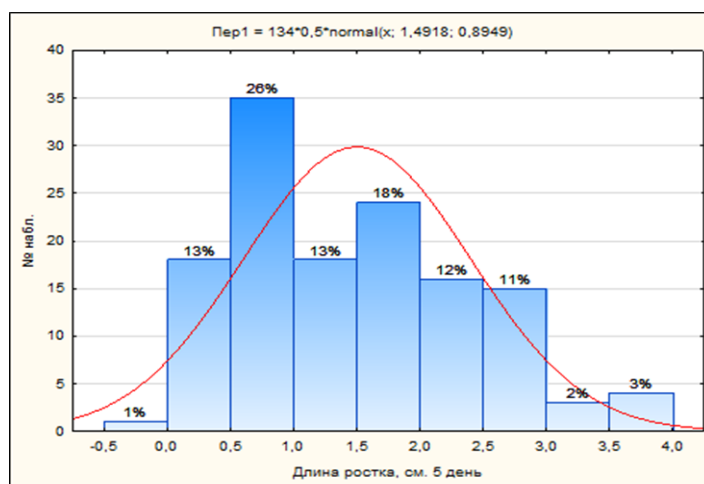


Рисунок 5 – Распределение сортов и гибридов риса по средней длине проростка при анаэробном прорастании

Максимальное значение средней длины проростка в интервале от 3,0 до 4,0 см наблюдали у 14 линий, что составляет 5%. Большинство образцов не имели корней. Только у трех гибридов был обнаружен проросший корешок, его длина составила от 2–3 мм. В процессе исследования 39 гибридов риса слабо проросли в пробирках, от 0,1 до 0,5 см, что связано с действием гена *Sub1A*.

Через 2 дня, т.е. на 7 день роста в пробирках длина проростка у образцов варьировала от 0,9 до 6,4 см, в среднем – 2,2 см. Минимальный прирост длины проростка (0,2–0,5 см) был отмечен у образцов: №1177((Inbara–3 x Новатор) x Контакт), №3137(Inbara–3 x Степняк), №2407(Бахус x Inbara–3) и другие). У большинства из них в родословной имеется сорт Inbara–3, несущий в своем генотипе ген *Sub1A*. На 9-ый день длина проростка варьировала от 1,4 до 8,6 см, в среднем 3,4 см.

На 12-ые сутки длина проростка у образцов варьировала от 1,6 до 13,2 см, в среднем 4,8 см. Преобладали образцы с длиной 3–7 см, их было 64%. Около 6% образцов быстро росли и преодолели слой воды в пробирке, выйдя на воздух. Это такие линии, как №4351 (Контакт x Khao Hlan On), №4798(Kharsu 80A x Контакт), №4794(Kharsu 80A x Контакт) и другие. Длина их проростка составила от 11,3 до 13,2 см.

Через 2 недели средняя длина проростков составила 6,2 см, варьируя от 1,8 до 18,5 см. Самым высокорослым оказался образец №4402(Kharsu 80A x Контакт) – 18,5 см, а низкорослым №4262((BR–11 x Новатор) x Боярин) – 1,8 см (рисунок 6).

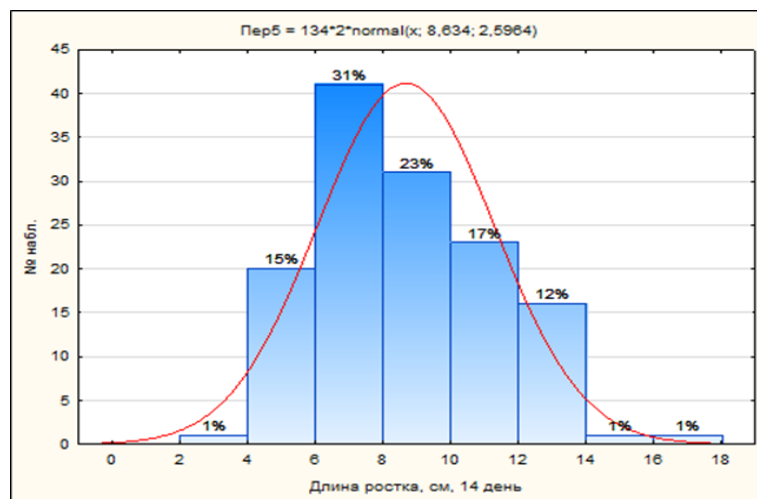


Рисунок 6 – Распределение сортов и гибридов риса по средней длине проростка при анаэробном прорастании на 14 день

В результате проведенного исследования коллекционные сорта отечественной селекции Контакт, Боярин, Новатор, Магнат, Степняк, Кубань–3, Бахус, Южанин, Кубояр и Командор, а также некоторые гибриды, которые унаследовали от зарубежных доноров гены *Sub1A*, значительно отставали в росте.

### 3.4.2 Определение солеустойчивых гибридных образцов риса

Тестирование генотипов на толерантность к засолению в ранние стадии развития является эффективным и широко распространённым методом, основанным на простых критериях оценки длины корневой системы, стебля и всхожести семян. Проведен опыт по выявлению толерантных и неустойчивых к хлоридному засолению образцов риса. Анализ всхожести контрольных образцов выращенных в дистиллированной воде не выявил достоверных отличий между изученными гибридами. Всхожесть составила от 93 до 100%, в среднем 98%. Анализ ростовых характеристик у контрольных образцов показал незначительное варьирование, так максимальное значение длины проростка составило 12,7 см у зарубежного сорта IR74099, а минимальное 8 см – №2769(IR74099 x Новатор) и №2773(IR74099 x Новатор); максимальное значение длины корня составило 12,9 см – №1644((IR52713 x Новатор) x Айсберг), а минимальное 8,1 см – №1955(IR74099 x Контакт).

Анализ ростовых характеристик при проращивании риса в 1% растворе NaCl показал значительное варьирование в зависимости от генотипа. Так длина растения у гибридных линий варьировала от 22,8% (№1648(IR52713 x Новатор) x Контакт) до 66,3% (№1956(IR74099 x Контакт), относительно контроля. Наилучшими показателями длины проростка при 1% засолении характеризовались зарубежные сорта, такие как R17 (6,0±1,3 см), IR52713 (6,6±1,2 см) и FL–478 (6,9±1,4 см), а у гибридных комбинаций лучшими были №1957(IR74099 x Контакт) (6,7±1,2 см), №2767(IR74099 x Новатор) (6,1±1,8 см), №2032(R26 x Контакт) (5,9±1,3 см) и №3137 (IR52713 x Новатор) (5,8±1,5 см), в которых идентифицировали гены *Saltol* и *SKC1*. Отечественные сорта (Контакт, Новатор и Боярин) по ростовым характеристикам проростка и корня, значительно отставали от донорных сортов.

Повышение концентрации соли до 1,5% достоверно снижало всхожесть семян и интенсивность роста проростков. Всхожесть варьировала от 40 до 75%, в среднем 59%. Длина проростков относительно контроля варьировала от 12,9% у №1648((IR52713 x Новатор) x Контакт) до 36,4% у зарубежного сорта IR52713. Лучшие показатели длины проростка были у солеустойчивого сорта IR52713 (3,6±0,2 см), а также у гибридных линий – №3143(IR52713 x Новатор) (3,3±0,3 см), №2767(IR74099 x Новатор) (3,1±0,8 см), №2776(IR52713 x Новатор)

(3,1±0,2 см) и №1657(IR52713 x Новатор) x Контакт) (3,0±0,4 см). Длина корешков, как у родительских, так и гибридных образцов была низкой от 0,1 до 0,6 см. Отечественные сорта (Контакт, Новатор и Боярин) по ростовым характеристикам проростка и корня значительно отставали от донорных сортов и гибридов с генами устойчивости к хлоридному засолению.

### 3.5 Создание дигаплоидных генотипов риса с помощью метода андрогенеза *in vitro*

#### 3.5.1 Получение дигаплоидов риса с генами глубоководного затопления

Одним из способов ускорения селекционного процесса является андрогенез *in vitro*, который позволяет получить гомозиготные линии от гибридов второго поколения. Из 26 комбинаций скрещивания отобрали 69 гибридных метелок риса. Выделили и пассировали на оптимизированную по уровню гормонов питательную среду 12604 пыльника (таблица 5).

Таблица 5 – Результаты культивирования пыльников риса

№ образца	Гибридная комбинация	Количество отобранных растений, шт.	Инокулировано пыльников, шт.	Количество каллусов, шт.	Количество морфогенных каллусов, шт.
5022	TDK-1 x Новатор	3	610	4	0
5103	TDK-1 x Новатор	3	614	22	4
5007	(Inbara-3 x Новатор) x Контакт	3	480	0	0
5005	(CR-1009 x Новатор) x Контакт	3	610	<b>38*</b>	3
5029	(CR-1009 x Новатор) x Контакт	4	<b>990</b>	2	0
5006	(Inbara-3 x Новатор) x Контакт	3	586	0	0
5093	CR-1009 x Контакт	3	548	1	0
5019	TDK-1 x Новатор	3	666	12	4
5003	(BR-11 x Новатор) x (Бахус x Боярин)	2	564	1	0
5009	(Inbara-3 x Новатор) x Контакт	3	609	<b>96*</b>	<b>17*</b>
5010	(Inbara-3 x Новатор) x Контакт	2	460	<b>94*</b>	<b>7*</b>
5008	(Inbara-3 x Новатор) x Контакт	3	549	24	0
5020	TDK-1 x Новатор	3	500	<b>39*</b>	<b>11*</b>
5018	TDK-1 x Новатор	3	727	<b>29*</b>	4
4565	IR-64 x Магнат	3	522	<b>134*</b>	<b>6*</b>
4773	Кубояр x Kharsu 80A	3	220	5	0
5016	TDK-1 x Новатор	3	675	1	0
4758	Контакт x Khao Hlan On	1	209	4	2
5021	TDK-1 x Новатор	3	500	<b>65*</b>	<b>27*</b>
4641	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	2	387	<b>74*</b>	<b>22*</b>
5017	TDK-1 x Новатор	3	501	<b>48*</b>	<b>7*</b>
4526	Inbara-3 x Новатор	1	80	10	<b>7*</b>
4688	BR-11 x Новатор	3	259	0	0
4617	Inbara-3 x Контакт	1	83	1	0
4585	BR-11 x Новатор	2	198	0	0
	$\Sigma$	<b>69</b>	<b>12604</b>	<b>704</b>	<b>127</b>
	$\bar{x}$	–	484,8	27,1	4,9
	s	–	208,7	36,9	7,2

Примечание: \* – достоверное отличие от среднего значения при  $p < 0,05$

Всего было получено 704 каллусов, из них морфогенных – 127 шт. Морфогенные каллусы риса сформировали 130 растений–регенерантов, из них только 30 растений были зелеными. После пересадки в почву было получено 25 растений–регенерантов, из которых 11 дигаплоидов, 5 тетраплоидов и 9 гаплоидов.

**Молекулярно-генетический анализ геномной ДНК регенерантного материала риса.** Регенерантные линии риса, полученные в культуре пыльников, были оценены с помощью отобранных молекулярных маркеров, идентифицирующих гены *Sub1A*, *SK1,2* и *AG1,2*.

В результате молекулярно–генетических анализов в растениях–регенерантах риса было обнаружено наличие генов устойчивости к длительному затоплению. В качестве примера, на рисунке 7 представлена электрофореграмма идентификации гена *SK1*.

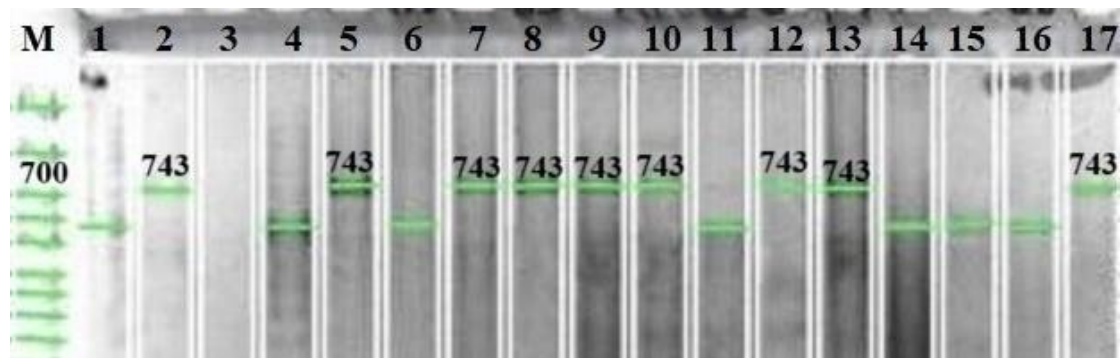


Рисунок 7 – Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК растений–регенерантов риса с маркером SK1(1F1R) (гена *SK1*)

М–маркер молекулярного веса (100–1000 пн); №1, 18–Новатор (отрицательный контроль); №2, 19–Khao Hlan On (положительный контроль); №3, 20–деионизированная вода (внутренний контроль опыта); №4, 21–Контакт; №5–17 и №21–33– исследуемые регенерантные образцы риса; №5–4641/14, №7–4641/1, №8–4641/13, №9–4641/3, №10–4641/5, №12–4641/9, №13–4641/8, №17–4641/11

Результаты молекулярного анализа продемонстрировали наличие доминантной аллели гена *SK1* в 10 регенерантных генотипах и в донорном сорте Khao Hlan On. Маркер гена *SK1* инициировал амплификацию фрагментов с молекулярной длиной ампликона порядка 743 пн. Частота рекомбинации изученных маркеров была менее 5% (RM7481 – 1,2%; SK1(1F1R) – 2,8%, Sub1A203 – 1,5%, RM24161 – 2,2%, RM478 – 2,4%, SK1(2F2R) – 1,3%, SK2(2F2R) – 1,9%), что свидетельствует о сцепленном наследовании данного маркера с признаком.

Донорные аллели генов устойчивости к глубоководному затоплению от вьетнамских сортов–доноров идентифицировали в 21 регенерантном растении. При этом два из них (№4641/1(Inbara–3 x Контакт) x Khao Hlan On и №4641/8(Inbara–3 x Контакт) x Khao Hlan On), унаследовали доминантные аллели генов *Sub1A*, *SK1*, *AG1* и *AG2*.

Семенной материал, полученный от растений регенерантов, был отправлен в лабораторию селекции риса ОП «Пролетарское» для внедрения в селекционный процесс.

### 3.5.2 Получение дигаплоидов риса с генами солеустойчивости

Из 14 комбинаций скрещивания отобрали 20 гибридных метелок риса. Выделили и пассировали на оптимизированную по уровню гормонов роста питательную среду 15897 пыльников. Максимальное количество пыльников было высажено в комбинации №2864(IR52713 x Новатор) – 1506 шт., а минимальное – №1964((IR52713 x Новатор) x Контакт) – 749 шт. (таблица 6).

Таблица 6 – Результаты культивирования пыльников риса

№	Название комбинации	Количество пыльников, шт	Количество каллусов, шт		Количество растений, шт	
			каллус	зеленый каллус	альбиносы	зеленые
2361	R17x Боярин	<b>1190*</b>	25	21	7	1
2362	R20x Контакт	<b>1203*</b>	68	12	2	0
2517	FL-478 x Контакт	<b>1430*</b>	0	0	0	0
2525	(Pockali x Новатор) x Аметист	910	0	0	0	0
2767	IR74099 x Новатор	<b>1456*</b>	7	1	1	1
2769	IR74099 x Новатор	<b>1226*</b>	<b>206*</b>	<b>114*</b>	25	0
1955	IR74099 x Контакт	<b>1254*</b>	<b>178*</b>	<b>53*</b>	8	0
1958	(IR52713 x Новатор) x Контакт	994	<b>375*</b>	<b>155*</b>	14	0
2085	(IR74099 x Новатор) x Контакт	1028	68	16	6	1
2864	IR52713 x Новатор	<b>1506*</b>	0	0	0	0
1954	FL-478 x Контакт	1095	0	0	0	0
2364	R26 x Контакт	987	<b>445*</b>	<b>224*</b>	36	<b>28*</b>
1642	IR52713 x Новатор	869	11	20	2	2
1964	(IR52713x Новатор) x Контакт	749	59	5	0	1
$\Sigma$		<b>15897</b>	<b>1442</b>	<b>621</b>	<b>101</b>	<b>34</b>
$\bar{x}$		1135,5	103,0	44,4	7,2	2,4
s		–	146,2	70,0	10,9	7,4

Примечание: \* – достоверное отличие от среднего значения при  $p < 0,05$

В общей сложности было получено 1442 каллуса, из них зеленых каллусов 621 шт. Изучаемые образцы риса сформировали 135 растений–регенерантов, из них зеленых – 34 шт. После пересадки в грунт было получено 21 растение, только в комбинации скрещивания №2364(R26 x Контакт), остальные погибли.

**Молекулярно-генетический анализ геномной ДНК регенерантного материала риса.** Регенерантные генотипы оценили с помощью молекулярных маркеров, на наличие интродуцируемых аллелей генов *Saltol*, *SKC1* и *SNC*. В качестве примера на электрофореграмме представлена идентификация гена *Saltol*, в растениях-регенерантах риса. Ген выявлен в доминантном состоянии у донорного сорта R26 и у регенерантных образцов под №3, 4, 6 (рисунок 8).

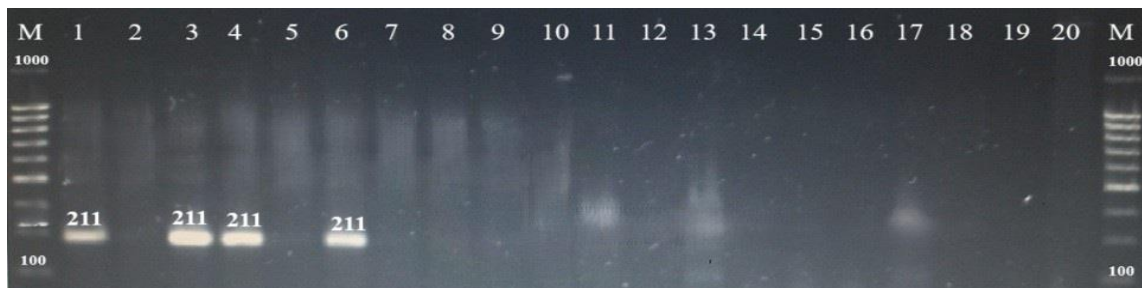


Рисунок 8 – Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК растений-регенерантов риса с маркером RM493 (гена *Saltol*)

M–маркер молекулярного веса (100–1000 пн); №1–R26(положительный контроль); №2–Контакт (отрицательный контроль); №3–23 – исследуемые регенерантные образцы риса; №3–2364/1, №4–2364/2, №6–2364/4 – с геном *Saltol*

Частота рекомбинации изученных маркеров была менее 5% (DQ148410 – 1,4%; RM493 – 2,2%, qSNC3 – 1,9%), что свидетельствует о сцепленном наследовании данного маркера с признаком. В общей сложности было идентифицировано 7 генотипов риса с доминантной аллелью генов устойчивости к хлоридному засолению, при этом один из них унаследовал доминантные аллели генов *Saltol* и *SKC1* (№2364/4). Семенной материал с регенерантных растений в настоящее время не получен, растения продолжают свою вегетацию в оранжерейных условиях.

### 3.6 Характеристика линий риса по комплексу хозяйственно ценных признаков в полевых условиях

По результатам лабораторных испытаний и молекулярно–генетического исследования были отобраны селекционные образцы риса, которые унаследовали донорные аллели генов устойчивости к глубоководному затоплению *Sub1A*, *SK1*, *SK2*, *AG1*, *AG2* и хлоридному засолению *Saltol*, *SKC1*, *SNC*. Поскольку важной задачей для селекции остается получение сортов не только с генами устойчивости к неблагоприятным факторам среды, но способных культивироваться в агроэкологической зоне Ростовской области и обладающих высокими показателями селекционно ценных признаков (скороспелость, число зерен в метелке, масса 1000 зерен и другие), был проведен анализ по выше перечисленным признакам.

**Хозяйственно ценные признаки гибридов риса с генами устойчивости к глубоководному затоплению.** Продолжительность вегетационного периода у образцов с генами *Sub1A*, *SK1*, *SK2*, *AG1* и *AG2* варьировала от 106 до 125 дней. Преобладали образцы с периодом вегетации от 110 до 120 дней – 80,1%, что является главным условием для культивирования растений риса в агроклиматической зоне Ростовской области. В качестве примера в таблице 7 приведены средние значения хозяйственно ценных признаков гибридных образцов риса и отечественных сортов.

Таблица 7 – Хозяйственно ценные признаки гибридных образцов риса устойчивых к глубоководному затоплению

Комбинация скрещивания	Вегетационный период, дней	Высота растений, см	Длина метелки, см	Количество зерен с 1 метелки, шт.	Масса 1000 зерен, г
<b>Магнат</b>	<b>112,5±5,1</b>	<b>100,2±5,1</b>	<b>15,0±0,5</b>	<b>149,3±10,2</b>	<b>29,9±0,9</b>
Swarna x Магнат	119,0±4,8	90,8±5,3	15,5±0,9	127,4±3,8	28,2±1,4
<b>Новатор</b>	<b>111,6±5,3</b>	<b>98,4±3,8</b>	<b>14,7±1,4</b>	<b>147,1±9,8</b>	<b>29,5±1,6</b>
Inbara-3 x Новатор	119,4±4,1	87,2±8,5	16,8±1,4	127,0±4,4	28,3±2,2
<b>Контакт</b>	<b>110,5±4,8</b>	<b>97,3±5,5</b>	<b>15,3±0,8</b>	<b>141,1±10,3</b>	<b>29,5±0,9</b>
Inbara-3 x Контакт	116,3±4,5	85,1±9,3	15,8±1,3	127,7±5,2	28,5±1,2
<b>Степняк</b>	<b>113,5±3,5</b>	<b>99,1±3,3</b>	<b>14,7±0,9</b>	<b>147,2±9,6</b>	<b>29,8±1,1</b>
Inbara-3 x Степняк	120,4±3,1	93,2±1,6	17,6±2,1	132,9±6,1	27,8±2,1
<b>Командор</b>	<b>115,5±2,9</b>	<b>100,2±6,1</b>	<b>15,0±1,1</b>	<b>144,3±9,5</b>	<b>30,1±1,3</b>
Inbara-3 x Командор	120,8±4,4	89,7±3,9	15,8±0,8	129,8±1,7	28,6±1,9
<b>Бахус</b>	<b>115,5±2,9</b>	<b>100,2±6,1</b>	<b>15,0±1,1</b>	<b>144,3±9,5</b>	<b>30,1±1,3</b>
Inbara-3 x Бахус	115,6±3,0	91,1±5,9	16,5±1,6	134,2±4,9	29,9±2,5
<b>Новатор</b>	<b>111,6±5,3</b>	<b>98,4±3,8</b>	<b>14,7±1,4</b>	<b>147,1±9,8</b>	<b>29,5±1,6</b>
TDK-1 x Новатор	117,4±5,2	93,2±5,8	16,5±1,4	134,5±7,9	28,8±2,1
<b>Новатор</b>	<b>111,6±5,3</b>	<b>98,4±3,8</b>	<b>14,7±1,4</b>	<b>147,1±9,8</b>	<b>29,5±1,6</b>
BR-11 x Новатор	116,3±5,1	89,3±3,7	15,6±1,5	135,5±9,2	28,3±1,3

Следует отметить, что гибридные образцы имели более длинную метелку, чем родительские сорта, при этом количество выполненных зерен с 1 метелки было меньше, чем у отечественных сортов. Это связано с высоким выходом пустых зерен. При этом масса 1000 зерен у гибридных образцов была более 27 г, а у некоторых даже незначительно превышала отечественные сорта.

**Хозяйственно ценные признаки гибридов риса с генами устойчивости к хлоридному засолению.** Гибридные образцы с генами солеустойчивости *Saltol*, *SKC1*, *SNC* в сравнении с отечественными сортами являлись среднеспелыми, продолжительность вегетационного периода варьировала от 96 до 115 дней. Преобладали гибридные образцы с продолжительностью периода вегетации от 100 до 110 дней – 36%. В качестве примера в таблице 8 приведены средние значения хозяйственно ценных признаков гибридных образцов риса и отечественных сортов.

Таблица 8 – Хозяйственно ценные признаки гибридных образцов риса устойчивых к хлоридному засолению

Комбинация скрещивания	Вегетационный период, дней	Высота растений, см	Длина метелки, см	Количество зерен с 1 метелки, шт.	Масса 1000 зерен, г
<b>Контакт</b>	<b>110,5±4,8</b>	<b>97,3±5,5</b>	<b>15,3±0,8</b>	<b>141,1±10,3</b>	<b>29,5±0,9</b>
R26(IR86385) x Контакт	96,1±6,3	88,3±6,3	16,9±1,3	126,1±4,2	27,4±2,0
IR74099 x Контакт	106,2±4,1	93±5,2	15,3±1,5	144,3±6,4	29,8±1,6
<b>Новатор</b>	<b>111,6±5,3</b>	<b>98,4±3,8</b>	<b>14,7±1,4</b>	<b>147,1±9,8</b>	<b>29,5±1,6</b>
Rokkali x Новатор	100,8±3,2	88,8±5,8	15,4±0,9	125,6±4,6	28,0±1,9
IR-45427 x Новатор	102,6±5,3	89,1±4,4	15,5±0,3	128,2±3,4	28,0±2,3
IR52713 x Новатор	98,9±2,3	88,5±4,9	15,6±0,9	128,9±2,4	27,4±2,2
IR74099 x Новатор	107,2±5,1	88,4±4,8	16,7±1,5	126,1±3,9	27,9±1,8
<b>Боярин</b>	<b>118,5±3,5</b>	<b>95,2±5,6</b>	<b>14,8±1,4</b>	<b>148,2±10,4</b>	<b>30,9±0,9</b>
R17(IR86385) x Боярин	96,1±6,3	89,3±6,3	16,9±1,3	126,1±4,2	27,4±2,0
<b>Контакт</b>	<b>110,5±4,8</b>	<b>97,3±5,5</b>	<b>15,3±0,8</b>	<b>141,1±10,3</b>	<b>29,5±0,9</b>
(IR52713 x Новатор) x Контакт	115,2±5,3	96,5±6,3	15,9±1,6	137,2±6,4	29,1±1,3

Большинство гибридных образцов имели высоту растений 85–98 см, что составило 54%. Преобладала группа с длиной метелки 14–14,5 (20%), 15,5–16,0 (16%) и 16,5–17,0 см (16%). Количество зерен с 1 метелки у 67% гибридов варьировало от 120 до 150 шт. В общем, у гибридных образцов наблюдалась однородность по всем хозяйственно ценным признакам.

**Хозяйственно ценные признаки регенерантных линий риса с генами устойчивости к глубоководному затоплению.** Полевые испытания регенерантных образцов риса показали следующие результаты, представленные в таблице 9.

Таблица 9 – Хозяйственно ценные признаки регенерантных растений риса с генами устойчивости к глубоководному затоплению

№	Комбинация скрещивания	Вегетационный период, дней	Высота растений, см	Длина метелки, см	Количество зерен с 1 метелки, шт	Масса 1000 зерен, г
	<b>Контакт</b>	<b>110,5±4,8</b>	<b>97,3±5,5</b>	<b>15,3±0,8</b>	<b>141,1±10,3</b>	<b>29,5±0,9</b>
4641/1	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	112,5±5,3	86,2±5,3	14,8±1,1	118,1±10,2	27,8±1,4
4641/2	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	115,2±4,9	83,2±4,7	15,0±0,9	132,2±9,5	29,1±1,5
4641/3	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	123,1±4,2	87,1±5,1	15,8±1,3	129,2±6,9	28,1±1,6
4641/4	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	120,4±5,2	92,3±4,3	15,5±1,4	116,2±5,4	27,6±0,9
4641/5	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	119,2±4,2	87,2±5,3	15,0±1,1	118,2±6,8	28,4±1,4
4641/7	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	116,5±5,5	95,1±4,7	15,3±1,4	123,4±9,1	24,3±1,5
4641/8	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	119,2±5,3	86,4±4,9	15,5±1,3	127,2±9,2	26,4±1,2
4641/10	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	116,2±4,8	87,5±5,3	15,2±1,5	129,3±6,8	29,5±1,2
4641/11	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	113,3±5,1	93,2±4,1	15,0±1,3	127,1±6,8	27,6±1,8
4641/12	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	118,1±4,2	85,4±4,2	17,8±1,4	118,3±7,5	28,5±1,8
4641/14	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	113,4±3,9	97,3±4,3	15,0±1,3	125,2±6,3	29,1±1,6
4641/15	(Inbara-3 x Контакт) x Khao Hlan On	116,3±4,2	78,5±4,9	14,3±1,4	132,4±5,8	29,2±1,5
	<b>Новатор</b>	<b>111,6±5,3</b>	<b>98,4±3,8</b>	<b>14,7±1,4</b>	<b>147,1±9,8</b>	<b>29,5±1,6</b>
5010/1	(Inbara-3x Новатор) x Контакт	120,2±5,2	87,3±4,3	16,3±1,4	125,4±6,7	29,7±1,8
5010/2	(Inbara-3x Новатор) x Контакт	119,5±4,2	81,4±4,2	15,3±1,5	127,3±8,4	28,2±1,6
5009/2	(Inbara-3x Новатор) x Контакт	116,5±5,4	97,4±4,3	15,2±1,3	129,6±7,7	29,5±1,7
5009/3	(Inbara-3x Новатор) x Контакт	113,4±5,3	83,5±4,4	15,0±1,3	127,5±8,3	27,6±1,7

По продолжительности вегетационного периода регенерантные линии являлись среднеспелыми, максимальные значения по этому признаку наблюдались у образцов №4641/3 –

123 дня. Самыми скороспелыми были образцы №4641/1 с вегетационным периодом 112 дней. Максимальное значение по признаку длина растений наблюдалось у регенерантных растений №4641/14 и № 5009/2 – 97 см. В целом регенерантные растения имели оптимальную высоту стебля для комбайнированной уборки. В среднем длина метелки составила 15,5 см, варьируя от 14,3 до 16,3 см. По количеству выполненных зерен с 1 метелки существенной разницы не наблюдалось. Масса 1000 зерен у регенерантных растений риса в среднем составила 28 г, достоверных превышений в сравнении с отечественными сортами не наблюдалось.

Таким образом, в результате проведенных исследований выделены перспективные гибридные образцы риса с генами устойчивости к глубоководному затоплению и хлоридному засолению и с комплексом хозяйственно ценных признаков для дальнейшей селекционной работы по созданию сортов устойчивых к абиотическим факторам среды.

## ВЫВОДЫ

1. На основе лабораторных и полевых испытаний выделены для дальнейшей гибридизации, следующие родительские формы: зарубежные сорта устойчивые к глубоководному затоплению IR-64, TDK-1, CR-1009, Swarna, Mazhan Red, Khan Dan, BR-11, Inbara-3, Kharsu 80A, Khao Hlan On и к хлоридному засолению IR74099, R21(IR86385), R26(IR86385), R20(IR86385), R17(IR86385), FL-478, IR527132B, Pokkali, а также высокопродуктивные сорта отечественной селекции Боярин, Контакт, Кубояр, Степняк, Командор, Бахус, Магнат, Южанин, Кубань-3, Новатор.

2. В результате сравнительного молекулярно-генетического анализа определены 7 информативных маркеров генов, определяющие признак устойчивости риса к глубоководному затоплению – Sub1A203, RM 7481, SK1(1F1R), SK1(2F2R), SK2(2F2R), RM 24161, RM 478 и 3 маркера генов устойчивости к хлоридному засолению – RM493, DQ148410, qSNC3.

3. С помощью ДНК–маркирования получены: 222 гибридные комбинации риса с доминантными аллелями генов *Sub1A*, *SK1*, *SK2*, *AG1*, *AG2*, контролирующие устойчивость к глубоководному затоплению и 45 гибридных комбинаций риса с доминантными аллелями генов *Saltol*, *SKC1*, *SNC*, контролирующие солеустойчивость.

4. В результате андрогенеза *in vitro* и ДНК–маркирования созданы 21 дигамплоидная линия с доминантными аллелями генов *Sub1A*, *SK1*, *SK2*, *AG1*, *AG2* и 7 линий с доминантными аллелями генов *Saltol*, *SKC1*, *SNC*, устойчивость, которых подтверждена в лабораторных испытаниях.

5. Для дальнейшей селекционной работы выделены перспективные гибридные комбинации риса устойчивые к глубоководному затоплению и хлоридному засолению с оптимальными показателями хозяйственно ценных признаков для выращивания в условиях Ростовской области.

## СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИОННОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

### Статьи в научных изданиях, входящих в Перечень ВАК

1. Идентификация генов устойчивости к длительному затоплению в гибридных образцах риса / Н. Г. Черткова, А. В. Усатов, П. И. Костылев, Н. Г. Дуплий // Социально-экологические технологии. – 2023. – Т. 13, № 4. – С. 366-383. – DOI 10.31862/2500-2961-2023-13-4-366-383. (K2)

2. Черткова, Н. Г. Скрининг гибридных генотипов риса на наличие гена устойчивость к засолению *Saltol* / Н. Г. Черткова, А. В. Усатов, П. И. Костылев // Живые и биокосные системы. – 2024. – № 48. – DOI 10.18522/2308-9709-2024-48-5. – URL: <https://jbks.ru/archive/issue-48/article-5> (дата обращения 27.05.2025) (K3)

3. Поиск новых генотипов риса с устойчивостью к глубоководному затоплению / Н. Г. Черткова, П. И. Костылев, А. В. Усатов [и др.] // Биотехнология. – 2024. – Т. 40, №6. – С. 33-

40. – DOI 10.56304/S0234275824060036. (K1, RSCI).

#### Статьи в научных изданиях, входящих в Scopus, Web of Science

4. Creation of Rice Doubled Haploids Resistant to Prolonged Flooding Using Anther Culture / P. Kostylev, N. Kainina, N. Vozhzhova, V. Golubova, N. Chertkova // Plants.– 2023. Vol. 12, No 21. – Art. No 3681. – DOI 10.3390/plants12213681. (K1).

#### Публикации в сборниках трудов конференций

5. Черткова, Н. Г. Идентификация гибридных форм риса с генами устойчивости к длительному затоплению / Н. Г. Черткова // Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы : V Международная научная конференция, посвященная 135-летию со дня рождения Н. И. Вавилова, Минск, 21-25 ноября 2022 г. : материалы конференции / Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси, Общественное объединение "Белорусское общество генетиков и селекционеров" ; редкол.: А. В. Кильчевский [и др.] – Минск, 2022. – С. 81.

6. Костылев, П. И. Создание регенерантных растений риса методом культуры пыльников / Костылев П. И., Черткова Н. Г. // Биологическое разнообразие и биоресурсы степной зоны в условиях изменяющегося климата : сборник материалов Международной научной конференции, посвящённой 95-летию Ботанического сада Южного федерального университета (24-29 мая 2022 г.) / Министерство науки и высшего образования Российской Федерации, Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования "Южный федеральный университет" ; ответственные редакторы: Т. В. Вардуни [и др.]. – Ростов-на-Дону ; Таганрог : Издательство Южного федерального университета, 2022. – С. 559-566. – Режим доступа: [https://conference2022.bg.sfedu.ru/images/All/Sbornik%20\\_2022.pdf](https://conference2022.bg.sfedu.ru/images/All/Sbornik%20_2022.pdf) (дата обращения 27.05.2025)

7. Черткова, Н. Г. Идентификация генотипов риса с генами толерантности к длительному затоплению / Н. Г. Черткова, А. В. Усатов // Генетический потенциал сельскохозяйственных растений и его реализация в селекции, семеноводстве и размножении : сборник статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции Кубанского отделения ВОГиС, 14 февраля 2024 года. – Краснодар: КубГАУ, 2024. – С. 191-192

8. Черткова, Н. Г. Создание регенерантных линий риса методом *in vitro* / Н. Г. Черткова, А. В. Усатов // Наука Юга России: достижения и перспективы : XX Всероссийская ежегодная молодежная научная конференция с международным участием, г. Ростов-на-Дону, 15–26 апреля 2024 г. : тезисы докладов. – Ростов-на-Дону: ЮНЦ РАН, 2024. – С. 20.

9. Черткова, Н. Г. Скрининг гибридов риса на наличие генов устойчивости к глубоководному затоплению / Н. Г. Черткова, А. В. Усатов // Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов: сборник докладов VI Международной научно-практической конференции, посвященной 300-летию Российской академии наук, 26-28 июня 2024 года. – Курск: ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр», 2024. – С. 100-101.

10. Фаддеева, Е. А. Идентификация генов устойчивости к длительному затоплению в образцах риса / Е. А. Фаддеева, Н. Г. Черткова // Инновационные пути развития адаптивно-ландшафтных систем земледелия : сборник докладов VIII Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию со дня рождения чл.-корр. РАСХН В. М. Володина, 25–27 сентября 2024 года. – Курск: ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр», 2024. – С. 272-276.

11. Черткова, Н. Г. ДНК-маркеры устойчивости к глубоководному затоплению у регенерантных растений риса / Н. Г. Черткова, А. В. Усатов, П. И. Костылев // Аграрная наука и производство: новые подходы и актуальные исследования : материалы международной научно-практической конференции, Персиановский, 11-13 февраля 2025 года : в трех томах. Т. 1. – пос. Персиановский : Донской ГАУ, 2025. – С. 187-190.

Подписано в печать 02.07.2025 г.  
Бумага офсетная. Формат 60×84/16. Тираж 100 экз.  
Усл. печ. лист 1,0. Уч.-изд. 1,0. Заказ № 10036.

Отпечатано в отделе полиграфической, корпоративной и сувенирной продукции  
Издательско-полиграфического комплекса КИБИ МЕДИА ЦЕНТРА ЮФУ.  
344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 200/1, тел. (863) 243-41-66.