

Научная статья

УДК 633.18:631.527:581.143.6

DOI: 10.37102/0869-7698_2022_223_03_4

Оценка линий удвоенных гаплоидов риса по морфобиологическим признакам

С.С. Гученко

Светлана Сергеевна Гученко

и.о. заведующего лаборатории селекции риса

младший научный сотрудник

Федеральный научный центр агробιοтехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки,

Усурийск, пос. Тимирязевский, Россия

lana_svet8@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3492-8934>

Аннотация. Проведена оценка удвоенных гаплоидов риса по хозяйственно ценным признакам. Объектами изучения являлись линии четвертого и пятого поколений, полученные из шести гибридных комбинаций: Hejiang 20 x KT-3, Хазар x Дарий 23, Луговой x Вираж, № 24 x Долинный, Долинный x Szarvasi 70, Romanico x б/н 9167. Использование линий удвоенных гаплоидов в качестве исходного гомозиготного материала повышает эффективность селекции, позволяет сократить временные и трудовые затраты. Выделены продуктивные, низкорослые, скороспелые линии с высокими технологическими качествами крупы для дальнейшего использования в селекционном процессе с целью получения нового сорта.

Ключевые слова: рис, удвоенные гаплоиды, *in vitro*, продуктивность, урожайность, технологические качества

Для цитирования: Гученко С.С. Оценка линий удвоенных гаплоидов риса по морфобиологическим признакам // Вестн. ДВО РАН. 2022. № 3. С. 42–48. http://dx.doi.org/10.37102/0869-7698_2022_223_03_4.

Evaluation of morphobiological indicators of rice double haploids

S.S. Guchenko

Svetlana S. Guchenko

Acting manager of the Laboratory for rice selection,

Junior researcher

Federal Scientific Centre of Agrobiotechnology in the Far East named after A.K. Chaika,

Ussuriysk, Timiryazevsky village, Russia

lana_svet8@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0003-3492-8934>

Abstract. Rice is a key crop in the south of the Russian Far East. Adoption of biotechnological methods combined with traditional plant breeding enhances effectiveness of the breeding process. Rice double haploid were evaluated according to economically valuable traits. The objects of the research were double haploid lines of the fourth (R_4) and fifth (R_5) generation obtained from six hybrid combinations: Hejiang 20 x KT-3, Khazar x Dariy 23, Lugovoy x Virazh, № 24 x Dolinny, Dolinny x Szarvasi 70, Romanico x w/n 9167. Using double haploid lines as starting homozygous material, increase efficiency of a breeding program and help to save time and effort. The goal of this research was to evaluate of rice double haploid plants from among hybrids of the fourth and fifth generation to select plants for the breeding process. After the evaluation, we selected short productive early-maturing lines with good technological properties of cereals. These lines will be used in the further breeding process to create a new rice variety.

Keywords: rice, double haploids, in vitro, productivity, yield, technological properties

For citation: Guchenko S.S. Evaluation of morphobiological indicators of rice double haploids. *Vestnik of the FEB RAS.* 2022;(3):42-48. (In Russ.). http://dx.doi.org/10.37102/0869-7698_2022_223_03_4.

Введение

Рис (*Oryza sativa* L.) – одна из самых важных в мире зерновых продовольственных культур, которая кормит более половины населения Земли [1] и выращивается практически повсеместно [2]. Среди рисосеющих районов нашей страны Приморский край является самой северной территорией.

Повышение потенциальной урожайности риса в различных условиях является первостепенной задачей для рисоводов [3]. В современных условиях одним из путей повышения урожайности риса и сокращения затрат на производство зерна является правильный подбор сортов [4]. Вследствие этого основными задачами в селекции риса являются разработка методов и приемов отбора ценных генотипов для ускоренного создания высокопродуктивных сортов с коротким периодом вегетации, высоким качеством зерна и устойчивостью к неблагоприятным факторам среды.

На создание новых сортов методами традиционной селекции требуется 12–15 лет, из которых 5–7 лет затрачивается для достижения гомозиготности, обеспечивающей отличимость будущего сорта и стабильность его признаков [5]. Для достижения этих целей в традиционную селекцию для создания новых сортов должны быть включены новые стратегии и инновационные подходы, такие как биотехнологии *in vitro*, разработанные для риса [6].

Андрогенез *in vitro* является важным компонентом биотехнологии растений. Гаплоидные и удвоенные гаплоиды, полученные в результате андрогенеза, уже давно признаны ценным инструментом в селекции растений [7]. Метод культуры пыльников используется для ускорения селекционных программ целого ряда сельскохозяйственных культур, в первую очередь кукурузы, пшеницы, риса и ячменя [3]. Техника культивирования пыльников была впервые разработана на рисе Ниидзеки и Ооно (1968 г.). Культура пыльников – это процедура культивирования тканей, которая может быть применена для ускорения селекции [8]. Удвоенные гаплоиды имеют ряд преимуществ, этот метод позволяет получать гомозиготные линии в 2–3 поколениях, в отличие от 6–7 поколений путем обычной селекции, и сокращает время, необходимое для выведения нового сорта, тем самым экономя труд и финансовые ресурсы [9, 10].

Цель данного исследования заключалась в оценке линий удвоенных гаплоидов риса четвертого и пятого поколений по хозяйственно ценным признакам для включения их в селекционный процесс.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в лаборатории селекции риса ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки в 2021 г. Опыты располагались на экспериментальной рисовой системе ФНЦ в почвенно-климатической зоне Уссурийска. Посев проведен в оптимальные для данной зоны сроки 22–24 мая.

Объектами изучения являлись линии удвоенных гаплоидов четвертого (R_4) и пятого (R_5) поколений, полученные лабораторией биотехнологии ФГБНУ «ФНЦ агробиотехнологий Дальнего Востока им. А.К. Чайки» методом культуры пыльников *in vitro* из шести гибридных комбинаций: Hejiang 20 x КТ-3, Хазар x Дарий 23, Луговой x Виразж, № 24 x Долинный, Долинный x Szarvasi 70, Romanico x б/н 9167. Потомство R_0 каждого растения в отдельности представляло собой 1 линию, которая была отселектирована на стабильность фенотипических признаков. Стандартом был районированный сорт риса Долинный.

Растения-регенеранты изучали в селекционном питомнике на делянках 1,5 м². Почва опытного участка – луговая глеевая тяжелосуглинистая, характерная для многих рисовых систем [11]. В пахотном слое почвы содержание фосфора повышенное, обменного калия – высокое, кислотность средне- и слабокислая. Возделывание риса проводили согласно разработанной для Приморского края технологии [12]. Предшественник – сидерально-занятый пар (соя на зеленое удобрение). В качестве основного удобрения использовали диаммофоску (10 : 26 : 26 %) в дозе $N_{30}P_{75}K_{75}$ д.в. на 1 га, подкормки в фазу кущения (3–4 листа) – карбамид (46 %) в дозе N_{45} д.в. на 1 га. Режим орошения – укороченное затопление.

Учеты и наблюдения проведены по методике государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур¹, математическая обработка результатов урожайности – по Б.А. Доспехову².

Результаты исследований

В результате анализа удвоенных гаплоидов по элементам продуктивности в течение нескольких поколений было выделено шесть линий по комплексу признаков.

Основная часть исследуемых линий (235-2, 237-2, 239-1, 243-2), как и стандарт, была представлена низкорослыми образцами (60,1–80 см), две линии: 231-1 и 234-1 – среднерослыми (80,1–100 см). Что касается признаков, контролирующих продуктивность – главный критерий эффективности селекционной работы, то у линий 234-1, 239-1, 243-2 в главной метелке было от 115,6 до 168,9 зерен, масса зерна с 1 растения – 5,8–8,0 г; у линий 239-1 и 243-2 отмечена сильная продуктивная кустистость (3,3 и 3,7 стеблей); все изучаемые линии характеризуются длинным колосом (16,0–19,1 см) (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика морфобиологических признаков дигаплоидных линий риса четвертого (R₄) и пятого (R₅) поколений

Линия	Высота растений, см	Длина метелки, см	Главная метелка		Кущение, стеблей	Масса зерна / 1 раст., г
			кол-во зерен, шт.	стерильность, %		
Долинный (St)	75,7	15,5	83,5	13,4	1,7	3,0
Romanico x б/н 9167						
231-1 – R ₅	91,9*	17,0	73,0	14,5	2,6	3,7
Хазар x Дарий 23						
234-1 – R ₅	94,8*	19,1	168,9*	7,9	1,9	7,4*
Луговой x Вираз						
235-2 – R ₅	73,1	18,5	94,3	11,8	2,6	3,7
№ 24 x Долинный						
237-2 – R ₄	74,5	17,5	92,3	12,7	2,4	4,3
Долинный x Szarvasi 70						
239-1 – R ₄	75,6	16,0	115,6*	16,8	3,3	5,8
Hejiang 20 x КТ-3						
243-2 – R ₄	73,6	17,5	120,0*	13,3	3,7	8,0*

* Достоверно при уровне значимости $p = 0,05$.

Продолжительность вегетационного периода является важным адаптационным признаком, от него зависят и урожайность, и устойчивость сорта к стрессовым факторам. Общая длительность вегетационного периода определяется сортовыми

¹ Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. Вып. 1. Общая часть / под общ. ред. М.А. Федина. М., 1985. 263 с.

² Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Изд. 5-е, доп. и перераб. Стер. изд. М.: Альянс, 2014. 351 с.

особенностями и условиями прохождения фаз вегетации [13]. Создание скороспелых сортов для почвенно-климатических условий нашего региона является приоритетным в селекционной работе. Стандартный сорт Долинный и 5 изучаемых линий относятся к скороспелой группе (100–110 дней), линия 231-1 созрела на 7 дней позже, чем стандарт. Растения-регенеранты линии 243-3 показали себя как среднеспелые (111–115 дней) (табл. 2).

Таблица 2
Хозяйственно-биологические особенности линий удвоенных гаплоидов риса

Линия	Вегетационный период, дни	Масса 1000 зерен, г	Урожайность, ц/га
Долинный (St)	100	29,9	47,6
Romanico x б/н 9167			
231-1 – R ₅	107	29,0	46,9
Хазар x Дарий 23			
234-1 – R ₅	103	30,8	55,1
Луговой x Вираз			
235-2 – R ₅	101	29,2	43,1
№ 24 x Долинный			
237-2 – R ₄	103	27,3	51,8
Долинный x Szarvasi 70			
239-1 – R ₄	100	27,9	39,1
Hejiang 20 x КТ-3			
243-2 – R ₄	111	28,9	45,2

Одним из важнейших элементов оценки семенной продуктивности является масса 1000 зерен. Дигаплоидная линия 234-1 превысила стандарт по этому показателю на 1 г. Высокой урожайностью характеризовались линии 234-1 и 237-2, они сформировали урожай зерна, превышающий стандарт на 4,2 и 7,5 ц/га.

Ценность сорта важна при сочетании комплексной адаптивности с урожайностью и качеством зерна, поэтому были изучены технологические свойства зерна линий удвоенных гаплоидов. В результате выделили линии с низкой, менее 17,0 %, пленчатостью (чем ниже пленчатость, тем выше выход крупы): 237-2 и 243-2. У всех изучаемых образцов отмечен низкий показатель трещиноватости –

Таблица 3
Характеристика дигаплоидных линий риса по технологическим показателям качества зерна, %

Линия	Стекловидность	Пленчатость	Трещиноватость
Долинный (St)	96,5	17,2	4
231-1	95,5	21,5	5
234-1	95,0	21,6	8
235-2	93,5	19,2	7
237-2	94,5	16,5	12
239-1	92,5	17,7	6
243-2	84,5	16,4	4

до 12 %. Стекловидный эндосперм зерновки обуславливает высокие потребительские достоинства крупы. Высокая стекловидность (92,5–95,5 %) была у зерна всех линий, кроме 243-2 (табл. 3).

Заключение

Таким образом, с использованием метода культуры пыльников *in vitro* были получены ценные линии удвоенных гаплоидных растений из шести гибридных комбинаций риса. В результате оценки выделены продуктивные, низкорослые, скороспелые линии с высокими технологическими качествами крупы, которые в дальнейшем будут участвовать в селекционном процессе, с целью получения нового сорта. Из шести линий по комплексу хозяйственно ценных признаков выделена наиболее перспективная линия 234-1.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Tripathy S.K., Lenka D., Prusti A.M., Mishra D., Swain D., Suraj K.B. Anther culture in rice: Progress and breeding perspective // *Appl. Biol. Res.* 2019. Vol. 21, iss. 2. P. 87–104. DOI: 10.5958/0974-4517.2019.00012.0.
2. Bajaj Y.P.S. Biotechnology in rice improvement // *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 14. Rice / ed. Y.P.S. Bajaj. Berlin: Heidelberg: Springer-Verl., 1991. P. 3–19. DOI: 10.1007/978-3-642-83986-3.
3. Osman K.A., Kang K.-H., El-Siddig A.A., Ahmed Ya.M., Abdalla S.M. Assessment of genetic variability for yield and attributed traits among rice doubled haploid (DH) lines in semi-arid zone Sudan // *African J. Agr. Res.* 2020. Vol. 16, iss. 7. P. 939–946. DOI: 10.5897/AJAR2019.14496.
4. Гученко С.С. Вариабельность количественных признаков дигаплоидных линий риса // *Состояние и перспективы селекции и семеноводства основных сельскохозяйственных культур*. Уссурийск: Полицентр, 2019. С. 125–129.
5. Дьячук Т.И., Акинина В.Н., Хомякова О.В., Кибкало И.А., Поминов А.В. Эффективность метода культуры пыльников для ускоренного создания гомозиготных линий тритикале // *Успехи соврем. естествознания*. 2017. № 11. С. 24–29. DOI: 10.17513/use.36576.
6. Ali J., Nicolas K.L.C., Akther S., Torabi A., Ebadí A.A., Marfori-Nazarea C.M., Mahender A. Improved anther culture media for enhanced callus formation and plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.) // *Plants*. 2021. Vol. 10, iss. 5. Article 839. <https://doi.org/10.3390/plants10050839>.
7. Mishra R., Rao G.J.N. *In vitro* androgenesis in rice: Advantages, constraints and future prospects // *Rice Sci.* 2016. Vol. 23, iss. 2. P. 57–68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rsci.2016.02.001>.
8. Serrat X., Cardona M., Gil J., Brito A.M., Moysset L., Nogués S., Lalanne E. A Mediterranean japonica rice (*Oryza sativa*) cultivar improvement through anther culture // *Euphytica*. 2014. Vol. 195. P. 31–44. DOI: 10.1007/s10681-013-0955-6.
9. Samantaray S., Ali J., Nicolas K.L.C., Katara J.L., Verma R.L., Parameswaran C., Devanna B.N., Kumar A., Dash B., Bhuyan S.S. Doubled haploids in rice improvement: Approaches, applications, and future prospects // *Rice Improvement, Physiological, Molecular Breeding and Genetic Perspectives* / eds J. Ali, S.H. Wani. L.: Springer, 2021. P. 425–447. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66530-2_12.
10. Sarao N.K., Gosal S.S. *In vitro* androgenesis for accelerated breeding in rice // *Biotechnologies of Crop Improvement*. Vol. 1 / eds S.S. Gosal, S.H. Wani. L.: Springer, 2018. P. 407–435. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78283-6_12.
11. Иванов Г.И. Почвы Приморского края. Владивосток: Прим. кн. изд-во, 1964. 107 с.
12. Памятка рисоводу Приморья / сост. Л.Г. Белоус, Б.А. Калитвинцев, Б.А. Крыжко и др.; Прим. фил. ВНИИ риса. Владивосток, 1984. 101 с.
13. Филиппов Е.Г., Донцова А.А., Донцов Д.П., Буланова А.А. Результаты экологического испытания сортов озимого ячменя // *Аграр. вестн. Урала*. 2017. № 5. С. 75–83.

REFERENCES

1. Tripathy S. K., Lenka D., Prusti A. M., Mishra D., Swain D., Suraj K.B. Anther culture in rice: progress and breeding perspective. *Appl. Biol. Res.* 2019;21(2):87-104. DOI: 10.5958/0974-4517.2019.00012.0.
2. Bajaj Y.P. S. Biotechnology in Rice Improvement. In: *Y.P.S. Bajaj (ed.). Biotechnology in Agriculture and Forestry.* Vol. 14. Rice. Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag; 1991. P. 3-19. DOI: 10.1007/978-3-642-83986-3.
3. Osman K.A., Kang K.-H., El-Siddg A.A., Ahmed Ya.M., Abdalla S.M. Assessment of genetic variability for yield and attributed traits among rice doubled haploid (DH) lines in semi-arid zone Sudan. *African J. Agr. Res.* 2020;16(7):939-946. DOI: 10.5897/AJAR2019.14496.
4. Guchenko S.S. Variabel'nost' kolichestvennykh priznakov digaploidnykh linii risa. In: *Sostoyanie i perspektivy seleksii i semenovodstva osnovnykh sel'skokhozyaistvennykh kul'tur.* Ussuriisk: Politsentr; 2019. P. 125-129. (In Russ.).
5. D'yachuk T.I., Akinina V.N., Khomyakova O.V., Kibkalo I.A., Pominov A.V. Ehffektivnost' metoda kul'tury pyl'nikov dlya uskorennoogo sozdaniya gomozigotnykh linii tritikale. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya.* 2017;(11):24-29. DOI: 10.17513/use.36576. (In Russ.).
6. Ali J., Nicolas K.L.C., Akther S., Torabi A., Ebadi A.A., Marfori-Nazarea C.M., Mahender A. Improved anther culture media for enhanced callus formation and plant regeneration in rice (*Oryza sativa* L.). *Plants.* 2021;(10(839)):1-16. <https://doi.org/10.3390/plants10050839>.
7. Mishra R., Rao G.J.N. *In vitro* androgenesis in rice: Advantages, constraints and future prospects. *Rice Sci.* 2016;23(2):57-68. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rsci.2016.02.001>.
8. Serrat X., Cardona M., Gil J., Brito A.M., Moysset L., Nogue's S., Lalanne E. A Mediterranean japonica rice (*Oryza sativa*) cultivar improvement through anther culture. *Euphytica.* 2014;195:31-44. DOI: 10.1007/s10681-013-0955-6.
9. Samantaray S., Ali J., Nicolas K.L.C., Katara J.L., Verma R.L., Parameswaran C., Devanna B.N., Kumar A., Dash B., Bhuyan S.S. Doubled haploids in rice improvement: Approaches, applications, and future prospects. In: *Ali J., Wani S.H. (eds). Rice Improvement, Physiological, Molecular Breeding and Genetic Perspectives.* London: Springer; 2021. P. 425-447. https://doi.org/10.1007/978-3-030-66530-2_12.
10. Sarao N.K., Gosal S.S. *In vitro* androgenesis for accelerated breeding in rice. In: *Gosal S.S., Wani S.H. (eds). Biotechnologies of Crop Improvement.* Vol. 1. London: Springer; 2018. P. 407-435. https://doi.org/10.1007/978-3-319-78283-6_12.
11. Ivanov G.I. Pochvy Primorskogo kraya. Vladivostok: Primorskoe knizhnoe izdatel'stvo; 1964. 107 p. (In Russ.).
12. Belous L.G., Kalitvintsev B.A., Kryzhko B.A. et al. (comp.). Pamyatka risovodu Primor'ya. Vladivostok: Primorskii filial VNII risa; 1984. 101 p. (In Russ.).
13. Filippov E.G., Dontsova A.A., Dontsov D.P., Bulanova A.A. Rezul'taty ekologicheskogo ispytaniya sortov ozimogo yachmenya. *Agrarnyi vestnik Urala.* 2017;(05):75-83. (In Russ.).