



Идентификация генов энергии прорастания *AG* у дигиплоидных андрогенных растений риса

Н.Г. Черткова^{1, 2, *} , П.И. Костылев² , А.В. Усатов¹ , Н.В. Калинина¹ 

¹ Южный федеральный университет, Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, д. 194;

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Аграрный научный центр «Донской», Россия, 347740, Ростовская область, г. Зерноград, ул. Научный городок, д. 3

*e-mail: tycik17082012@gmail.com

Рис играет огромную роль в питании населения мира. В России, как в Европе и Америке, рис в основном высевают прямым посевом, а в Азиатских странах применяют рассадную технологию. После прямого посева следует затопление поля, которое может привести к низкому проценту всходов и гибели молодых растений. С другой стороны, затопление рисовых чеков помогает в борьбе с сорными растениями, грызунами. Несмотря на то, что рис — это растение-гидрофит, вода может приводить к гипоксии или даже аноксии, способствуя угнетению молодых побегов. В целом большинство сортов риса на ранних стадиях развития в условиях водного стресса имеют низкую выживаемость, поэтому необходимо проводить скрининг генотипов и отбирать селекционный материал, способный выдерживать стрессовые условия. Одним из факторов толерантности к условиям водного стресса является энергия прорастания *AG* (*anaerobic germination*), представляющая собой сложный признак, контролируемый несколькими генами, картированными на разных хромосомах. Зарубежные ученые выделили сорта, обладающие генами энергии прорастания *AG* (Khao Hlan On, Mazhan Red и другие). В нашей стране на данный момент мало сортов с генами устойчивости к анаэробным условиям. В настоящее время с помощью QTL (quantitative trait locus) изучено небольшое количество местных сортов и популяций на толерантность к анаэробным условиям, поэтому необходимо расширить исследования большого количества образцов для отбора устойчивых генотипов. Целью настоящего исследования стало проведение скрининга дигиплоидных андрогенных растений риса на наличие генов энергии прорастания *AG1* и *AG2*, а также отбор перспективных генотипов, представляющих особый интерес для селекционной работы. В качестве исходного материала использовали 25 растений регенерантов, полученных методом культуры пыльников *in vitro*, из четырех гибридов, родительскими линиями которых являлись доноры энергии прорастания (Khao Hlan On), устойчивости к глубоководному затоплению (Inbarga-3, IR-64) и высокопродуктивные российские сорта (Контакт, Магнат, Новатор). Молекулярно-генетический анализ проводился с применением молекулярных маркеров *AG1* (qAG-9-2) и *AG2* (qAG-7-1). В общей сложности ген *AG1* идентифицировали в 17 линиях риса, ген *AG2* — в 11 линиях, а оба гена — в 9 линиях риса (4641/1, 4641/2, 4641/3, 4641/4, 4641/6, 4641/8, 4641/9, 4641/10, 5010/4). Лабораторный опыт на устойчивость дигиплоидных линий к анаэробному стрессу выявил образцы с высокой энергией прорастания. Отобраны перспективные дигиплоидные андрогенные растения риса в качестве исходного материала для селекции.

Ключевые слова: рис, метод *in vitro*, энергия прорастания, гены *AG1* и *AG2*, дигиплоидные андрогенные растения риса, анаэробный стресс

DOI: 10.55959/MSU0137-0952-16-80-2-7

Введение

Рис (*Oryza sativa* L.) — это вторая по площади возделывания в мире зерновая и продовольственная культура [1]. В нашей стране, как в Европе и Америке, рис в основном высевают прямым посевом (ПП), в Азиатских странах применяют рассадную технологию посева. Затопление рисовых

чеков, плохо выравненные поля и плохой дренаж при ПП могут привести к низкому проценту всхожести семян, а также гибели молодых растений риса. Однако длительное глубокое затопление помогает в борьбе с сорными растениями, грызунами [2]. Повышение уровня воды в рисовых чеках является экологическим стресс-фактором, которое

может ограничивать рост, развитие растений риса, приводя к серьезным потерям урожая. Несмотря на то, что растения риса являются гидрофитами, вода может приводить к гипоксии или даже аноксии, что предотвращает функционирование ферментов для расщепления углеводов и выработки энергии, необходимой для роста растений [3, 4]. В целом большинство сортов риса на ранних стадиях развития в условиях водного стресса имеют плохую всхожесть и выживаемость [1]. Использование MAS-технологий (marker-assisted selection) позволяет проводить скрининг большого количества генотипов за короткое время и отбирать линии, способные выдерживать длительное затопление во время прорастания, что значительно снижает гибель молодых растений и повышает урожайность, а также помогает бороться с сорной растительностью [2].

Одним из факторов толерантности к условиям водного стресса является энергия прорастания *AG* (*anaerobic germination*), представляющая собой сложный признак, контролируемый несколькими генами, картированными на разных хромосомах [5–7]. Маккилл и Куш в своих исследованиях выяснили, что толерантность к анаэробным условиям водного стресса у риса является целостным полигенным признаком, который обусловлен генами, контролирующими огромное количество физиологических и биохимических процессов, происходящих внутри растения [8]. Действие таких процессов позволяет растению удлинять стебель при низком уровне кислорода и ускорять газообмен в условиях его недостатка [4]. Основные локусы QTL (quantitative trait locus) толерантности к условиям водного стресса у риса обнаружены и картированы на разных хромосомах и обозначены как *AG1* и *AG2*.

Ангаджи и др. [9, 10] при проведении скрининга тысячи образцов риса, выявили несколько местных сортов, имеющих в геноме гены энергии прорастания *AG* (Khao Hlan On, Mazhan Red и другие). В сорте Khao Hlan On идентифицировано пять QTL, из них самый большой картирован на длинном плече хромосомы 9 (*qAG-9-2*). У сорта Mazhan Red идентифицировано шесть значимых QTL: на хромосомах 2, 5, 6 и 7, а самые крупные QTL обнаружены у сорта Nanhі на хромосоме 7 (*qAG-7-1*) [2, 11].

В России на данный момент мало сортов с генами устойчивости к анаэробным условиям. В настоящее время с помощью QTL изучено небольшое количество местных сортов и популяций на толерантность к анаэробным условиям, поэтому необходимо расширить исследования большого количества образцов для отбора устойчивых генотипов. Главным преимуществом MAS-технологий в сравнении с традиционными методами селекции является быстрый скрининг генотипов, сокращение селекционного процесса и повышение степени на-

дежности оценки селекционного материала [12]. Сочетание традиционных методов селекции с фундаментальными – например, андрогенеза *in vitro* – позволяет ускорить селекционный процесс и получить генетически уникальное гомозиготное потомство (дигаплоиды), которое может обладать высоким потенциалом урожайности и устойчивостью к абиотическим и биотическим факторам среды. Объединив MAS-технологии и метод культуры пыльников *in vitro*, можно быстро получить уникальные линии с генами устойчивости к абиотическим стресс-факторам. В нашем предыдущем исследовании с применением биотехнологических методов были получены регенерантные растения риса. Исходным материалом являлись гибриды, родительскими линиями, которых были донорные растения с генами энергии прорастания и российские высокоурожайные сорта (реципиенты) [13].

Целью исследования стало проведение скрининга дигаплоидных андрогенных растений риса на наличие генов энергии прорастания *AG1* и *AG2*, а также отбор перспективных генотипов, представляющих особый интерес для селекционной работы.

Материалы и методы

Первый этап исследования включал отбор растительного материала в теплице с 25 линий риса, полученных методом культуры пыльников *in vitro* в лаборатории клеточной селекции Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Аграрный научный центр «Донской» в 2023 г. (Комбинация 4641 (Inbara-3 × Контакт) × Khao Hlan On – 14 растений; комбинация 4565 (IR-64 × Магнат) – 2 растения; комбинация 5009 (Inbara-3 × Новатор) × Контакт – 3 растения и комбинация 5010 (Inbara-3 × Новатор) × Контакт – 6 растений). Родительскими линиями являлись доноры энергии прорастания Khao Hlan On (Мьянма), устойчивости к глубоководному затоплению Inbara-3 (Индонезия), IR-64 (Филиппины) и российские сорта (Контакт, Магнат, Новатор). Второй этап исследования заключался в выделении геномной ДНК из высечек зеленых листьев с помощью детергента СТАВ (ЦТАБ – цетилтриметиламмонийбромид), который позволяет получать чистую растительную ДНК для полимеразной цепной реакции (ПЦР). Объем реакционной смеси для амплификации составлял 25 мкл: 5 мкл Sybr Green (5×; Евроген, Россия), 1 мкл F-праймера, 1 мкл R-праймера (общая концентрация праймеров в конечной реакционной смеси 0,4 мкМ), 15 мкл деонизированной воды и 3 мкл ДНК (с концентрацией 100 нг). Амплификацию проводили в термоциклере Rotorgene 6000 (Corbett Research, Австралия). Амплификационные продукты подвергали электрофорезу в 2%-ном агарозном геле. Гель фотодокументировали в трансиллюминаторе под ультрафиолетовым светом с помощью видеосистемы GelDoc 2000 (BioRad, США).

Электрофореграммы анализировали при помощи программы Bio-Rad ImageLab 6.0. Для ПЦР-анализа использовали отобранные по литературным данным и базе данных www.ncbi.nih.gov маркеры *AG1* (*qAG-9-2*) и *AG2* (*qAG-7-1*) [1, 9], синтезированные ЗАО «Евроген» (Россия). Маркеры имели следующие нуклеотидные последовательности праймеров: *AG1* F 5'–GTATGGCGAGACCCTACAGACC–3', R 5'–GACCCACTTAATGTGTCAACAAGG–3'; *AG2* F 5'–GGGTGGAGTGTAATAATAGCAAGC–3', R 5'–AACACGTCCAAAGTCACAGAGC–3'.

Заключительный этап исследования состоял в проверке достоверности полученных с помощью ПЦР-анализа результатов. Для этого в лабораторных условиях провели опыт по проращиванию зерен, полученных от дигиплоидных андрогенных растений риса, под слоем воды в пробирках [14]. Воздушно-сухие семена в количестве 5 шт. помещали в пробирку высотой 15 см, заливали дистиллированной водой глубиной 10 см и инкубировали в культуральной комнате при температуре 25–26°C с освещенностью более 5000 люкс и фотопериодом 16/8 ч [15]. Динамику роста фиксировали на 5-е, 7-е, 11-е и 14-е сут измерением колеоптиле. Экспериментальные данные обрабатывали с помощью программы Excel пакета STATISTICA 6. Проводили расчет стандартного отклонения и коэффициента вариации.

Результаты

Молекулярные технологии позволяют проследить передачу генов от родительских линий к гибридным растениям. Практически любой ген, locus могут быть маркированы, поскольку существует большое количество специфических маркеров, в том числе и для генов устойчивости к абиотическим и биотическим факторам среды у растений риса [16].

В наших исследованиях дигиплоидные андрогенные растения риса мы проанализировали на наличие генов энергии прорастания *AG1* и *AG2*. Тестирование с помощью молекулярных маркеров показало следующие результаты, представленные на рис. 1 и 2. В качестве примера, на рис. 1 маркер гена *AG1* инициировал амплификацию фрагментов молекулярной массы порядка 235 п.н., что соответствует литературным данным. Результаты молекулярно-генетического анализа продемонстрировали наличие гена *AG1* в 17 линиях и в донорных сортах Inbara-3 и Khao Hlan On. Маркер гена *AG2* инициировал амплификацию фрагментов с длинной ампликона порядка 110 пн. В качестве примера, на рис. 2 ген *AG2* визуализировался в 10 генотипах. По результатам скрининга, основанном на ПЦР-анализе, выявлены образцы, несущие в себе гены *AG1* и *AG2* (табл. 1). В общей

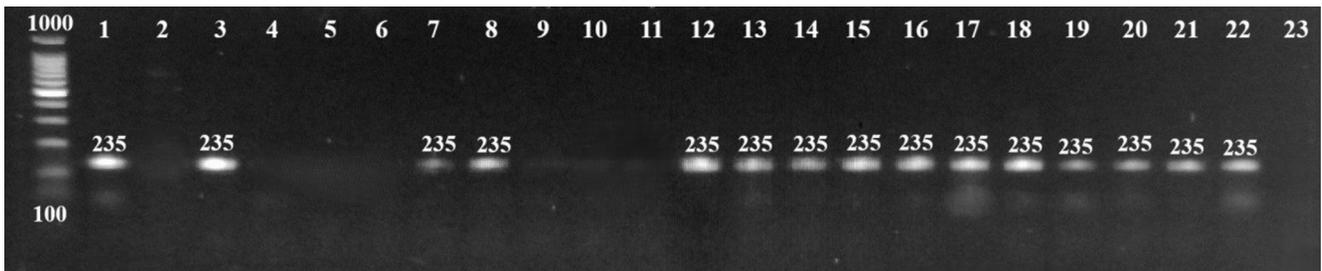


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК андрогенных линий риса с маркером гена *AG1*

Примечание: * М – маркер молекулярного веса 50+ п.н. DNALadder («Евроген», Россия); №1 – Inbara-3, №2 – IR-64, №3 – Khao Hlan On (донорные сорта); №4 – Контакт; №5 – Новатор; №6 – Магнат (российский сорта риса без гена *AG1*); №7 – 23 – регенерантные линии риса; №7–4641/1; №8–4641/2; №12–4641/3; №13–4641/4; №14–4641/5; №15–4641/6; №16–4641/7; №17–4641/8; №18–4641/9; №19–4641/10; №20–4641/14; №21–4641/15; №22–5010/1

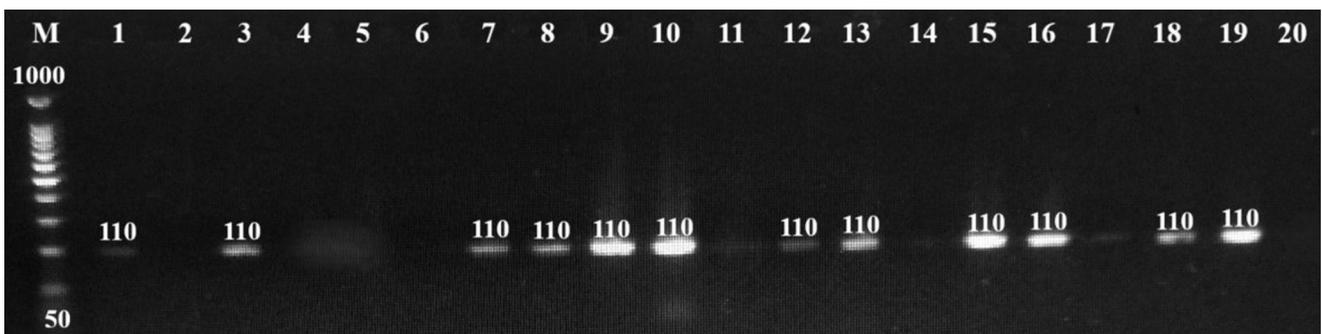


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК андрогенных линий риса с маркером гена *AG2*

Примечание: * М – маркер молекулярного веса 50+ п.н. DNALadder («Евроген», Россия); №1 – Inbara-3, №2 – IR-64, №3 – Khao Hlan On (донорные сорта); №4 – Контакт; №5 – Новатор; №6 – Магнат (российский сорта риса без гена *AG2*); №7 – 23 – регенерантные линии риса; №7–4641/1; №8–4641/2; №9–4641/3; №10–4641/4; №12–4641/6; №13–4641/8; №15–4641/9; №16–4641/10; №18–4641/12; №19–5010/4

сложности ген *AG1* идентифицировали в 17 линиях риса, ген *AG2* – в 11 линиях, а оба гена – в 9 линиях риса (4641/1, 4641/2, 4641/3, 4641/4, 4641/6, 4641/8, 4641/9, 4641/10, 5010/4).

Заключительный этап состоял в исследовании морфофизиологического ответа, полученного от дигаплоидных растений риса семенного материала на действие водного стресса. Из 25 растений семенной материал был получен только от 17 генотипов, так как некоторые регенеранты оказались гаплоидными (стерильными). Скрининг дигаплоидных линий риса показал следующие результаты, представленные на рис. 3.

Таблица 1

Наличие генов *AG1* и *AG2* в регенерантных линиях риса

Линия	<i>AG1</i>	<i>AG2</i>	Линия	<i>AG1</i>	<i>AG2</i>
4641/1	+	+	4641/15	+	–
4641/2	+	+	5010/1	+	–
4641/3	+	+	5010/2	+	–
4641/4	+	+	5010/3	+	–
4641/5	+	–	5010/4	+	+
4641/6	+	+	5010/5	–	–
4641/7	+	–	5010/6	–	–
4641/8	+	+	5009/1	–	–
4641/9	+	+	5009/2	–	+
4641/10	+	+	5009/3	+	–
4641/11	–	–	4565/1	–	–
4641/12	–	+	4565/2	–	–
4641/14	+	–			

Примечание: «+» ген, унаследованный от зарубежных донорных сортов Khao Hlan On и Inbara-3; «–» ген от отечественных сортов Контакт, Новатор, Магнат.

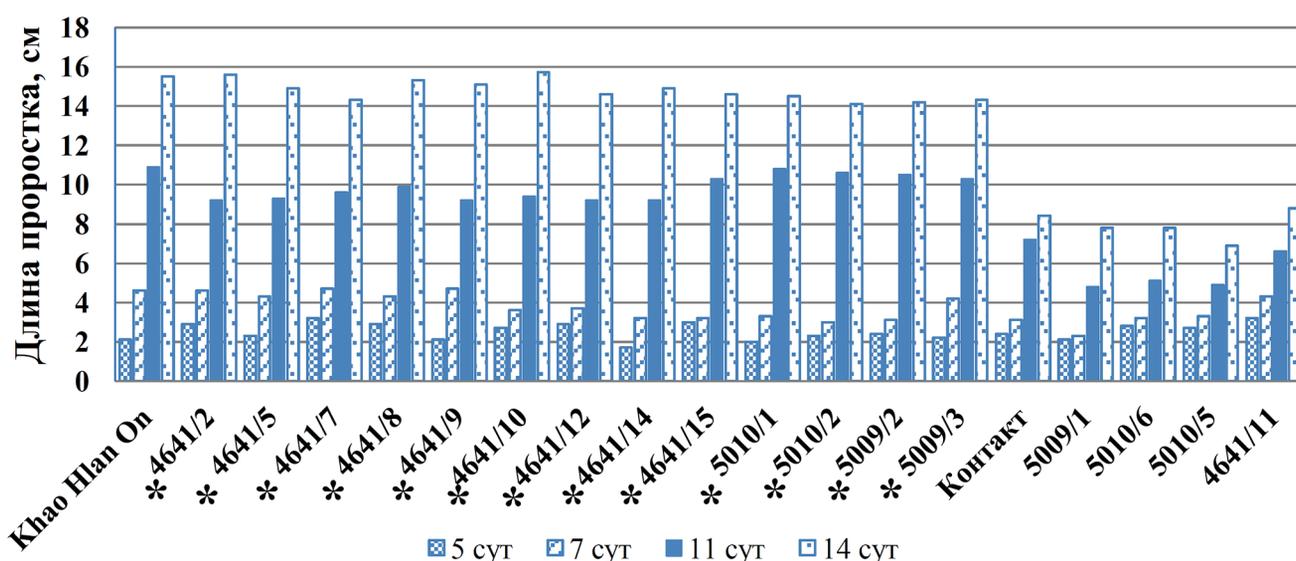
На 5-е сутки затопления, существенной разницы по длине coleoptile практически не наблюдалось, варьирование составило от 1,7 см (4641/14) до 3,2 см (4641/7 и 4641/11). На 7-е сут длина проростков увеличилась в донорном сорте Khao Hlan On на 2,5 см, в реципиентном сорте Контакт – на 0,7 см, а в линиях – от 0,2 см (4641/1 и 4641/15) до 2,6 см (4641/9). На 11-е сут максимальные значения по длине coleoptile наблюдались у линий 4641/15, 5010/1, 5010/2, 5009/2, 5009/3, а также у донорного сорта Khao Hlan On и составили 10,3 см, 10,8 см, 10,6 см, 10,5 см, 10,3 см и 10,9 см соответственно. На 14-е сутки разница по длине у линий риса без генов *AG1*, *AG2* и с генами была существенной и составила в среднем 6,9 см. Длина проростка растений риса, не имеющих гены *AG1* и *AG2*, была сходной с этим показателем у реципиентного сорта Контакт. Разница по длине проростка у линий с двумя генами и одним в среднем составила 0,7 см. Значение коэффициента вариации по признаку динамики роста варьировало от 17,3% (на 5-е сут) до 24,5% (на 14-е сут) (табл. 2).

Полученный неоднородный селекционный материал обладает наибольшим потенциалом для дальнейшего отбора лучших генотипов.

Таблица 2

Показатели динамики роста дигаплоидных линий риса

Показатели	День проращивания, сут			
	5	7	11	14
Среднее значение длины проростка, см	2,5	3,7	8,8	13,1
Коэффициент вариации, %	17,3	19,2	23,1	24,5



Стандартное отклонение: на 5 сут – 0,4; на 7 сут – 0,7; на 11 сут – 2,0; на 14 сут – 3,2 см

Рис. 3. Динамика роста дигаплоидных линий риса в условиях водного стресса

Примечание: * – линии, статистически значительно отличающиеся от отечественного сорта Контакт

Обсуждение

При прорастании семян риса под водой в корневой зоне возникает несколько неблагоприятных условий. Кислорода становится недостаточно, что препятствует дыханию и росту корней, а также накапливаются такие газы, как CO₂ и этилен. Недостаток кислорода приводит к замедлению роста и функционирования корней, тем самым снижая поглощение питательных веществ и воды. Кроме того, в токсичных концентрациях накапливаются некоторые вещества, такие как сероводород и промежуточные продукты анаэробного углеводного обмена – например, органические кислоты. Это изменяет рН среды и влияет на доступность питательных веществ для растения и их усвоение. В совокупности эти изменения приводят к повреждению корней и всего растения и в тяжелых случаях могут привести к его гибели [17]. Было обнаружено некоторое генетическое разнообразие в отношении устойчивости к переувлажнению, но оно не было в достаточной мере использовано в селекции.

Создание сортов риса, более устойчивых к затоплению во время прорастания, способствовало проведению исследований для выявления признаков, связанных с устойчивостью, и выведения селекционных линий, более подходящих для прямого посева. Недавно были идентифицированы основные QTL, *AG1* и *AG2*, связанные с устойчивостью к затоплению во время прорастания, и они являются целью для клонирования и использования в маркер-ориентированной селекции [2].

Когда затопление происходит сразу после прямого посева, устойчивые к слою воды генотипы риса прорастают лучше, а их проростки растут относительно быстрее, чтобы выбраться из затопленной почвы. Эти генотипы способны формировать корни и листья под водой. Их устойчивость к затоплению связана со способностью инициировать и поддерживать катаболизм углеводов в прорастающих семенах, анаэробное дыхание для поддержания энергоснабжения и сохранение релаксированности клеток растущего зародыша. По мере того, как проросток удлиняется и достигает более

аэрируемых зон, развивается аэренхима, обеспечивающая кислородом погруженные в воду части растения, особенно корни [17].

Образцы риса, которые мы выделили в результате исследований, представляют большую ценность для селекционной работы, направленной на создание сортов, устойчивых к глубокому уровню воды, который создается после посева семян. Эта технология позволяет подавить сорную растительность, которая не может преодолеть слой воды толщиной 30–40 см. Рис с генами *AG* способен к такому прорастанию, в результате чего сохраняется большое количество всходов, формируется оптимальная густота посева, а массив растений риса становится чистым от сорняков без применения гербицидов. Поэтому проведенные исследования имеют не только теоретическую, но и практическую пользу для сельского хозяйства.

Заключение

В ходе исследования провели скрининг дигиплоидных андрогенных растений риса на наличие генов энергии прорастания *AG1* и *AG2*. Ген *AG1* был идентифицирован в 17 линиях и в донорных сортах Inbarga-3 и Khao Hlan On, а ген *AG2* – в 11 линиях, 9 из них унаследовали оба гена (4641/1, 4641/2, 4641/3, 4641/4, 4641/6, 4641/8, 4641/9, 4641/10, 5010/4). Лабораторный опыт по проращиванию зерен риса в пробирках выявил линии с высокой энергией прорастания. Значение коэффициента вариации по признаку динамики роста варьировало от 17,3% (на 5-е сут) до 24,5% (на 14-е сут). Семенной материал с перспективных андрогенных растений рекомендуется к внедрению в селекционные программы и представляет особый интерес для дальнейших исследований.

Исследование выполнено в рамках Государственных заданий № 0505-2025-0007 и №0505-2025-0009 ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской». Работа проведена без использования животных и без привлечения людей в качестве испытуемых. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kim S.-M., Kim C.-S., Jeong J.-U., Reinke R.-F., Jeong J.-M. Marker-assisted breeding for improvement of anaerobic germination in japonica rice (*Oryza sativa*). *Plant Breed.* 2019;138(6):810–819.
2. Septiningsih E.-M., Ignacio J.-C.-I., Sendon P.-M.-D., Sanchez D.-L., Ismail A.-M., Mackill D.-J. QTL mapping and confirmation for tolerance of anaerobic conditions during germination derived from the rice landrace Ma-Zhan Red. *Theor. Appl. Genet.* 2013;126(5):1357–1366.
3. Oe S., Sasayama D., Luo Q., Fukayama H., Hatana-ka T., Azuma T. Growth responses of seedlings under complete submergence in rice cultivars carrying both the sub-

mergence-tolerance gene Sub1A-1 and the floating genes Snorkels. *Plant Prod. Sci.* 2021;25(1):70–77.

4. Mondal S., Hasan M.J., Ahmad T., Miah M.G., Cruz P.C.S., Ismail A.M. Effects of *AG1* and *AG2* QTLs on nonstructural carbohydrate and seed management options for rice seedling growth and establishment under flooding stress. *Rice Science.* 2020;27(6):515–528.

5. Bailey-Serres J., Chang R. Sensing and signaling in response to oxygen deprivation plants and other organisms. *Ann. Bot.* 2005;96(4):507–518.

6. Ismail A.-M., Ella E.-S., Vergara G.-V., Mackill D.-J. Mechanisms associated with tolerance to flooding during

germination and early seedling growth in rice (*Oryza sativa*). *Ann. Bot.* 2008;103(2):197–209.

7. Ismail A.-M., Johnson D.-E., Ella E.-S., Vergara G.-V., Baltazar A.-M. Adaptation to flooding during emergence and seed ling growth in rice and weeds, and implications for crop establishment. *AoB Plants*. 2012:pls019.

8. Mackill D., Khush G. IR64: a high-quality and high-yielding mega variety. *Plant Science*. 2018;11(1):18.

9. Angaji S.-A., Septiningsih E.-M., Mackill D.-J., Ismail A.-M. QTLs Associated with tolerance of flooding during germination in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*. 2010;172(2):159–168.

10. Haque Md. A., Rafii M.-Y., Yusoff M.-M., Ali N.-S., Yusuff O., Arolo F., Anisuzzaman M. Flooding tolerance in Rice: adaptive mechanism and marker-assisted selection breeding approaches. *Mol. Biol. Rep.* 2023;50(3):2795–2812.

11. Baltazar M.-D., Ignacio J.-C.-I., Thomson M.-J., Ismail A.-M., Mendiolo M.-S., Septiningsih E.-M. QTL mapping for tolerance of anaerobic germination from IR64 and the *aus* landrace Nanhi using SNP genotyping. *Euphytica*. 2014;197:251–260.

12. Черткова Н.Г., Усатов А.В., Костылев П.И., Дуплий Н.Г. Идентификация генов устойчивости к длительному затоплению в гибридных образцах риса. *Социально-экологические технологии*. 2023;13(4):366–383.

13. Kostylev P., Kalinina N., Vozzhova N., Golubova V., Chertkova N. Creation of rice doubled haploids resistant to prolonged flooding using anther culture. *Plants*. 2023;12(21):3681.

14. Manangkil O.-E., Vu H.-T.-T., Yoshida S., Mori N., Nakamura C. A simple, rapid and reliable bioassay for evaluating seedling vigor under submergence in indica and japonica rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*. 2008;163:267–274.

15. Костылев П.И., Голубова В.А., Вожжова Н.Н., Калинина Н.В. Новый метод защиты риса от сорных растений с помощью длительного погружения в воду. *Биосфера*. 2022;14(4):343–346.

16. Sabouri H., Rezai A.-M., Moumeni A., Kavousi A., Katouzi M., Sabouri A. QTLs mapping of physiological traits related to salt tolerance in young rice. *Biol. Plant*. 2009;53:657–662.

17. Kirk G.-J.-D., Greenway B.-J., Atwell B.-J., Ismail A.-M., Colmer T.-D. Adaptation of rice to flooded soils. *Progress in Botani*. Eds. U. Lüttge, W. Beyschlag and J. Cushman. Berlin, Heidelberg: Progress in Botany; 2013:215–253.

Поступила в редакцию 27.09.2024

После доработки 23.05.2025

Принята в печать 11.06.2025

RESEARCH ARTICLE

Identification of *AG* germination energy genes in dihaploid androgenic rice plants

N.G. Chertkova^{1, 2, *} , P.I. Kostylev² , A.V. Usatov¹ , N.V. Kalinina¹ 

¹ Southern Federal University, Stachki Ave. 194, Rostov-on-Don, 344090, Russia;

² Federal State Budgetary Scientific Institution “Agrarian Research Center “Donskoy”, st. Scientific town, 3, Zernograd, 347740, Rostov region, Russia

*e-mail: tycik17082012@gmail.com

Rice plays a huge role in the nutrition of the world population. In Russia, as in Europe and America, rice is mainly sown by direct seeding, while in Asian countries, seedling technology is used. Direct seeding is followed by flooding of the field, which can lead to a low percentage of seedlings and death of young plants. On the other hand, flooding of rice fields helps in the fight against weeds and rodents. Despite the fact that rice is a hydrophyte plant, water can lead to hypoxia or even anoxia, contributing to the suppression of young shoots. In general, most rice varieties at the early stages of development under water stress have low survival, so it is necessary to screen 8 genotypes and select breeding material capable of withstanding stressful conditions. One of the factors of tolerance to water stress conditions is the germination energy *AG* (anaerobic germination), which is a complex trait controlled by several genes mapped on different chromosomes. Foreign scientists have identified varieties with the *AG* germination energy genes (Khao Hlan On, Mazhan Red and others). In our country, there are currently few varieties with genes for resistance to anaerobic conditions. Currently, a small number of local varieties and populations have been studied for tolerance to anaerobic conditions using QTL, so it is necessary to expand the study of a large number of samples to select resistant genotypes. Therefore, the purpose of the study was to screen dihaploid androgenic rice plants for the presence of *AG1*, *AG2* germination energy genes and to select promising genotypes of particular interest for breeding work. The source material was 25 regenerated plants obtained by *in vitro* anther culture from four hybrids whose parental lines were donors of germination energy (Khao Hlan On), resistance to deep-water flooding (Inbara-3, IR-64) and Russian varieties (Contact, Magnat, Novator). Molecular genetic analysis was performed using molecular markers *AG1* (qAG-9-2) and *AG2* (qAG-7-1). In total, the *AG1* gene was identified in 17 rice lines, the *AG2* gene in 11 lines, and both genes in 9 rice lines (4641/1, 4641/2, 4641/3, 4641/4, 4641/6, 4641/8,

4641/9, 4641/10, 5010/4). Laboratory experiment on dihaploid lines resistance to anaerobic stress revealed samples with high germination energy. Promising dihaploid androgenic rice plants were selected as source material for breeding.

Keywords: *rice, in vitro method, anaerobic germination, AG1 and AG2 genes, dihaploid androgenic rice plants, anaerobic stress*

Funding: The study was carried out within the framework of State assignments No. 0505-2025-0007 and No. 0505-2025-0009 of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Donskoy Agrarian Scientific Center”.

Сведения об авторах

Черткова Наталья Григорьевна – аспирантка кафедры генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ; мл. науч. сотр. лаборатории клеточной селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской». Тел.: 8-86359-4-14-68; e-mail: tycik17082012@gmail.com; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4005-9771>

Костылев Павел Иванович – докт. с.-х. наук, проф., гл. науч. сотр. лаборатории селекции и семеноводства риса, руководитель Центра фундаментальных научных исследований ФГБНУ «АНЦ «Донской». Тел.: 8-86359-4-14-68; e-mail: p-kostylev@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4371-6848>

Усатов Александр Вячеславович – докт. биол. наук, проф., зав. лабораторией молекулярной генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ. Тел.: 8-863-243-31-76; e-mail: usatova@sfedu.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0600-7927>

Калинина Наталия Владимировна – науч. сотр. лаборатории клеточной селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской». Тел.: 8-86359-4-14-68; e-mail: kalinina74783@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2305-4189>