

УДК 631.527:633.18 (571.6)
ГРНТИ 68.35.29, 68.35.03

Илюшко М.В., канд. биол. наук, доцент, ст. науч. сотр. лаборатории с.-х биотехнологии;
E-mail: ilyushkoiris@mail.ru;

Ромашова М.В., канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. лаборатории с.-х биотехнологии

Приморский научно-исследовательский институт сельского хозяйства,
пос. Тимирязевский, Уссурийский район, Приморский край, Россия

СОЗДАНИЕ РЕГЕНЕРАНТНЫХ ЛИНИЙ МЕТОДОМ КУЛЬТУРЫ ПЫЛЬНИКОВ IN VITRO ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ РИСА НА РОССИЙСКОМ ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

Приводятся данные по регенерационной способности риса в культуре пыльников in vitro после каллусообразования на двух вариантах индукционных питательных сред (N₆-1 и Mix-1). Среды имеют одинаковый гормональный (2,0 мг/л 2,4-Д) и углеводный составы (3 % сахарозы), различаются минеральной основой микроэлементов и витаминов. Исследования проводились на гибридах риса F₁ и F₂, всего использовано 26 генотипов. Питательная среда N₆-1 является более приемлемой для культуры пыльников дальневосточных гибридов риса в сравнении со средой Mix-1, так как после нее образуется на регенерационной среде больше каллусов с зелеными регенерантами, и, в конечном счете, больше зеленых побегов. Доля продуктивных регенерантов составляет 45,5-65,5 % от общего числа зеленых регенерантов. Получено 1536 регенерантных линий из восьми гибридов риса F₂, характеризующихся различными показателями хозяйственно ценных признаков.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *ORYSA SATIVA L.*, КУЛЬТУРА ПЫЛЬНИКОВ *IN VITRO*, ИНДУКЦИОННАЯ СРЕДА, ПРОДУКТИВНЫЙ РЕГЕНЕРАНТ.

UDC 631.527:633.18 (571.6)

Ilyushko M.V., Cand. Biol. Sci., Senior Researcher;

E-mail: ilyushkoiris@mail.ru

Romashova M.V., Cand. Agr. Sci., Senior Researcher;

Primorsky Research Institute of Agriculture,

Village of Timiryazevsky, Ussuriysk District, Primorsky Territory, Russia

CREATION OF REGENERANT LINES BY THE METHOD OF ANther CULTURE IN VITRO FOR RICE BREEDING IN THE RUSSIAN FAR EAST

The article presents data on rice regeneration capacity in anther culture in vitro after callusing on the two variants of inductive nutrient mediums (N₆-1 u Mix-1). Mediums have same hormone (2,0 mg/l 2,4-D) and carbohydrate (3 % saccharose) compositions and differ in mineral base of trace elements and vitamins. The research was carried out into rice hybrids F₁ u F₂, total genotypes used: 26. Nutrient medium N₆-1 is more suitable for anther culture of the Far Eastern rice hybrids as compared to medium Mix-1, since after it more calluses with green regenerants appear on the regeneration medium and finally more green shoots grow. Portion of productive regenerants amount to 45,5-65,5% of total green regenerants. We obtained 1536 productive regenerants lines from eight rice hybrids F₂, characterized by different productive economic indexes.

KEY WORDS: *ORYSA SATIVA L.*, ANther CULTURE *IN VITRO*, INDUCTIVE MEDIUM, PRODUCTIVE REGENERANT.

Рис – одна из важнейших культур в сельскохозяйственном производстве Приморского края. В селекционных программах рисосеющих стран мира широко и

успешно применяется культура пыльников *in vitro* [2, 11, 12, 17, 21, 26]. В последние годы в ФГБНУ «Приморский НИИСХ» проводятся исследования с целью создания

регенерантных линий в культуре пыльников гибридов и сортов риса для ускорения селекционного процесса и повышения его эффективности. За это время отработаны элементы методики получения регенерантов риса [9], передано селекционерам несколько сот линий, проведена их оценка в специальном питомнике [8]. Выделившиеся линии переданы в селекционный питомник для испытания в полевых условиях.

Отработка методики создания регенерантных линий риса, в конечном счете, необходима для массовой их наработки из перспективных гибридов, что позволяет ускорить селекционный процесс за счет выведения гомозиготного константного селекционного материала – дигаплоидов. Как и в любой селекционной работе, успех получения дигаплоида с комбинацией селекционно ценных признаков обуславливается достаточно высоким объемом прорабатываемого материала [4]. Из сотен линий, испытанных в полевых условиях, выделяются только единицы по хозяйственно ценным признакам [4, 14, 15].

Для того, чтобы обеспечить сотни и тысячи линий в культуре пыльников *in vitro* необходимо получение большого процента регенерации зеленых почек и растений в каждой гибридной комбинации [13, 16]. Показатели регенерационной способности сильно изменяются в зависимости от гибрида и от генотипа, т.е. даже в пределах одной гибридной комбинации разные растения F_1 или F_2 обеспечивают различную интенсивность каллусообразования и регенерации зеленых растений: от очень низкой до очень высокой [4, 5, 15]. Таким образом, необходимо охватывать максимально большее число генотипов гибридных растений для введения в культуру *in vitro*.

Вопрос о том, какое поколение гибридов целесообразно использовать для культуры пыльников *in vitro*, остается дискуссионным. Рекомендуется брать гибриды F_1 или F_2 , более поздние генерации гибридов проходят несколько циклов рекомбинации, что является нежелательным [26]. Для селекционных целей предпочитают вводить в культуру *in vitro* первое гибридное потомство [13, 15, 22, 23], по нескольким причинам. Во-первых, именно оно имеет в себе в

равной степени наследственную информацию обоих родителей. Во-вторых, использование гибридов F_2 увеличивает длительность селекции на один год. Тем не менее, есть несколько аргументов в пользу гибридов F_2 . В отдельные годы гибридное потомство F_1 не дает каллусообразования, в этом случае для культуры пыльников возможно использование только гибридов последующего поколения. Кроме этого, у гибридов риса F_2 частота каллусообразования выше, чем у гибридов F_1 [18].

Большой выход регенерации зеленых почек зависит от состава питательных сред для культивирования пыльников и каллусов. Несмотря на глубокую изученность этого вопроса у риса и очевидные селекционные успехи, исследователи продолжают поиск более эффективных питательных сред для этой цели [1, 4, 7]. Нами были выделены лучшие среды для каллусообразования в культуре пыльников *in vitro* дальневосточных гибридов и сортов по результатам одного года [10]. Две среды (N₆-1 и Mix-1) имеют одинаковый гормональный состав, различаются минеральной основой и есть небольшие отличия в композиции витаминов. Цель исследований состоит в создании исходного селекционного материала риса посевным методом культуры пыльников *in vitro*.

Для выполнения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- получить регенеранты риса (R_0) и их семенное потомство (R_1);
- уточнить регенерационную способность гибридов после каллусообразования на двух вариантах индукционных питательных сред.

Материалы и методика проведения исследований. Объектом исследования является рис посевной *Oryza sativa* L. подвида *japonica* Kato. В работе были использованы гибриды риса F_1 и F_2 , полученные в лаборатории селекции риса. Гибриды первого поколения: 300 (Szaorvasi 70 * Хейлунзян 106) и 303 (Дарий 122 * № 9167). Гибриды второго поколения: 35*96 (УкрНИИС 3435 * Укр96), 9*Д (УНГИ № 9 * Долинный), Р*67 (Романика * 9167), 5А*Б (Марателли 5А * Боярин), 20*КТ-3 (Hejiang 20 * КТ-3), Р*257 (Регул * SR 257), Д*70 (Долинный *

Szorvasi 70), 02*23 (Окси 2 * Дарий 23), 24*Д (№ 24*Долинный).

Исходные растения выращивали на вегетационной площадке в сосудах до периода сбора метелок. Перед введением в культуру *in vitro* пыльники риса подвергали воздействию низких положительных температур 5 °С в течение семи дней в цилиндрах с водой. Инокуляцию пыльников проводили на индукционные питательные среды N₆-1 и Mix-1. Пыльники культивировали в темноте при температуре 25-27 °С до образования каллуса 1-5 мм. Затем каллус переносили на среду N₆-рк для вторичной дифференцировки побегов. Условия культивирования каллусов в культуральной комнате: освещенность 4 тыс. лк, температура 22-25 °С, фотопериод 16/8 часов. Для укоренения регенерантов использована среда MS с половинным минеральным составом макросолей. Составы всех питательных сред приведены в таблице 1.

Регенеранты с развитой корневой системой высаживали в горшечную культуру и продолжали выращивать в условиях культуральной комнаты до образования семян. По морфологическим признакам все регенеранты разделили на пять фракций: гаплоиды (растения без семян с очень мелкими цветками), удвоенные гаплоиды (растения с семенами), тетраплоиды (растения с очень крупными немногочисленными семенами и выраженным килем и ребристостью на цветочной чешуе), растения без семян (сформировали цветки нормального размера, но не образовали семян на двух и более метелках) и погибшие на ранних этапах роста и развития растения.

Статистическая оценка (средние значения признака и стандартное отклонение, стандартная ошибка) проводилась с использованием программы Statistica. Разницу между вариантами определяли с помощью t-критерия Стьюдента.

Таблица 1

Состав питательных сред

Компонент, мг/л	Индукционные		Для регенерации из каллуса	Укоренение регенерантов
	N ₆ -1	Mix-1	N ₆ -рк	1/2MS
Макросоли	N ₆ *	N ₆	N ₆	1/2MS
Микросоли	N ₆	MS**	N ₆	MS
Железо-хелат	N ₆	N ₆	N ₆	MS
Тиамин HCl – B ₁	1,0	0,4	1,0	-
Пиридоксин HCl – B ₆	0,5	0,5	0,5	-
Никотиновая кислота – PP	0,5	0,5	0,5	-
Глицин	2,0	2,0	2,0	-
Мезо инозитол	-	100,0	-	-
НУК	-	-	-	0,25
БАП	-	-	1,0	-
Кинетин	-	-	1,0	-
2,4-Д	2,0	2,0	-	-
Сахароза, г/л	30,0	30,0	60,0	20,0
Агар, г/л	8,0	8,0	8,0	8,0
pH	5,8	5,8	5,8	5,8
Примечание.* – среда С.Chu [19]; ** – среда Т.Murashige and F.Skoog [25].				

Результаты исследований

В 2014 году на двух вариантах индукционной питательной среды было высажено 762 пыльника двух гибридов F₁ и 7174 пыльника гибридов F₂. Гибриды второго поколения представлены растениями от двух до пяти штук (рис.1).

Два гибрида F₁ (300, 303) и гибрид F₂ (02*23(1), 02*23(2)) не образовали каллуса,

хотя в 2013 году у гибрида F₁ (02*23) 15% пыльников каллусировали на среде N₆-1 и впоследствии образовали зеленые регенеранты, в том числе один продуктивный. Всего 24 гибридных растения сформировали каллусы. Восемь гибридов F₂ в этом эксперименте имели интенсивность каллусообразования от низкой (три растения – 0%) до очень высокой (83,3%) (рис. 2).

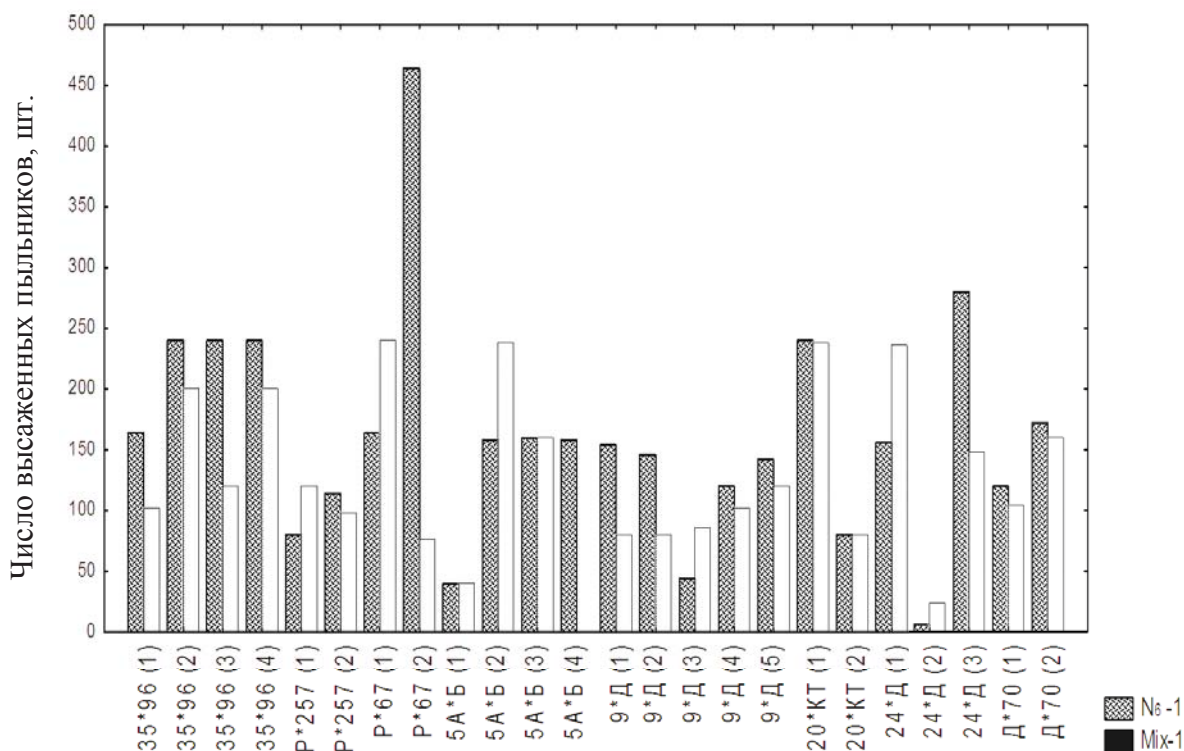


Рис. 1. Объем инокуляции пыльников гибридных растений F₂ на двух вариантах питательных сред

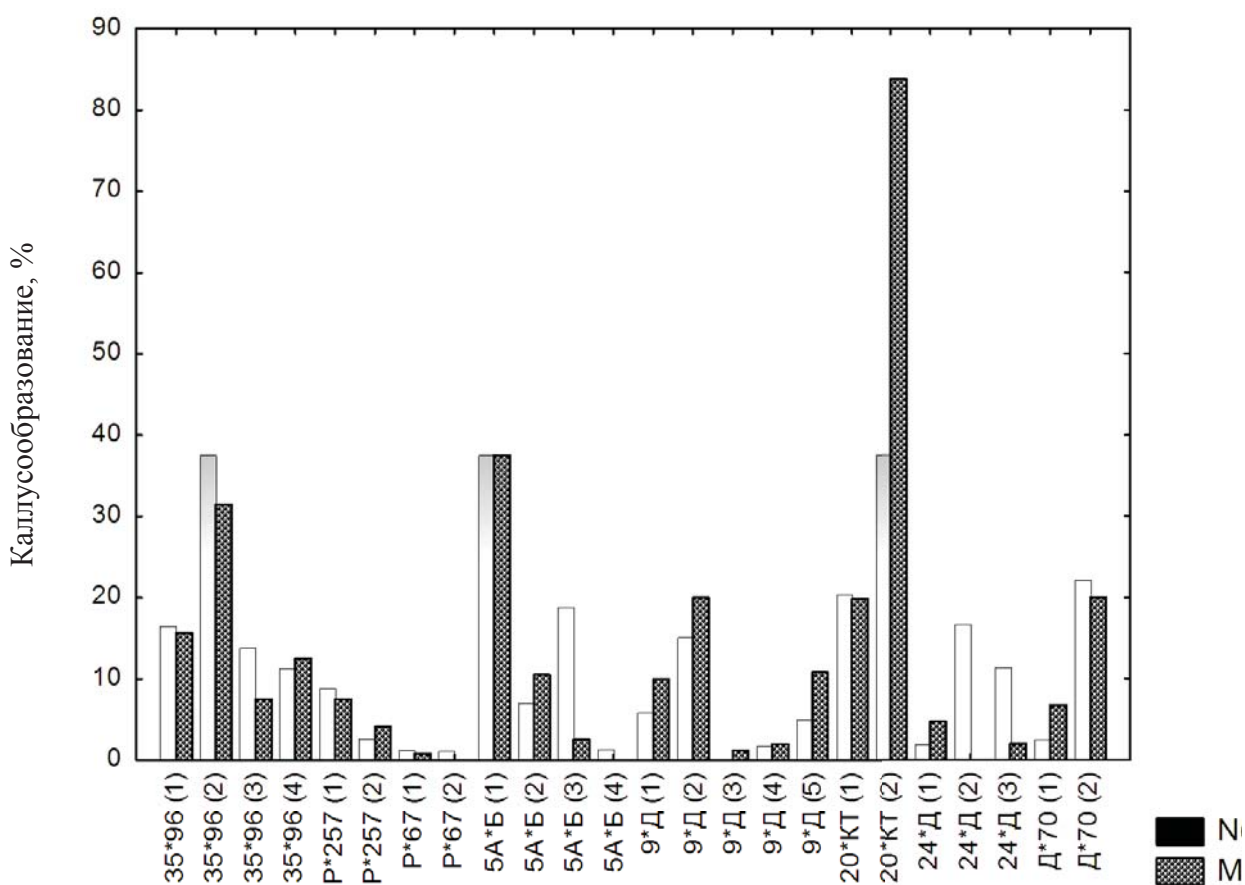


Рис. 2. Каллусообразование у гибридов F₂

Этот показатель в среднем на двух вариантах питательных сред был одинаковым: 12,4% на среде N₆-1 и 13,5% на среде Mix-1 ($t=0,25$ при $p=0,80$). В пределах одного гибрида у разных растений наблюдались различия. Так, например, у гибридного растения 35*96(2) каллусообразование было очень высоким: 37,5% на среде N₆-1 и 31,5% на среде Mix-1; а у гибридного растения 35*96(4) в три раза ниже: 11,3% и 12,5% соответственно. Для каждого гибридного растения характерны близкие значения каллусообразования на обоих вариантах питательных сред. Различия в интенсивности каллусообразования у гибридов в пределах одной гибридной комбинации отмечены в работах других авторов [4, 15], что подтверждает генотипическую зависимость этого процесса. Ранее указывалось, что каллусообразование и последующая регенерация у растений обусловлены отдельными блоками генов [5, 21, 22, 24, 27]. Возможно, при расщеплении в F_2 не все гибридные растения получили гены, ответственные за интенсивное каллусообразование, и, соответственно, не передали их формирующимся микроспорам в пыльниках.

После каллусообразования на двух индукционных питательных средах, каллусные агрегаты высаживали на питательную среду N₆-рк для формирования зеленых почек и регенерации. После среды N₆-1 было трансплантировано от 0 до 90 каллусов для разных гибридных растений (в среднем 18,7 шт. на гибридное растение), и после среды Mix-1 – от 0 до 67 каллусов (в среднем 16,5 шт. на гибридное растение). Различий по доле каллусов с регенерантами и числу зеленых регенерантов на каллус не выявлено, а доля каллусов с зелеными регенерантами в два раза выше на среде N₆-1 (таблица 2). Это, в конечном счете, приводит к увеличению общего числа зеленых регенерантов.

Гибридное растение 20*КТ(2) сформировало шесть каллусных агрегатов с зелеными регенерантами на среде N₆-1 и семь на среде Mix-1. Статистически значимых различий по числу регенерантов каждого типа между средами у гибрида 20*КТ(2) не обнаружено, что дало нам право объединить их в единый пул, всего 429 регенерантных растений. Различия во фракциях регенерантов отражены в таблице 3. Продуктивные регенеранты составляют 66,3 % (дигаплоиды и тетраплоиды). Гаплоиды составляют меньшую

долю – 19,4 %, но если учесть, что погибшие растения – это, вероятнее всего, также гаплоиды с летальными и субвитальными генами, которые сильнее себя проявляют в фенотипе, чем у диплоидных растений [6], то общая доля гаплоидов возрастает до 29,2%. Остальные растения, вероятно, имеют геномные или хромосомные отклонения, несовместимые с нормальным формированием семян. У других гибридных растений соотношение фракций регенерантов несколько изменяется. Например, гибридное растение 39*96(2) на среде N₆-1 сформировало 31,7 % гаплоидов, 45,0 % дигаплоидов, 0,9 % тетраплоидов, 5,3 % растений без семян, 17,2 % погибших растений. В целом, соотношение фракций разных регенерантов, согласуется с полученными нами ранее данными [9]. Другие авторы отмечают, что доля дигаплоидов и других фракций регенерантов варьирует в зависимости от подвита риса, условий культивирования каллуса, способа получения регенерантов и других факторов [2, 14, 28], и может достигать 72% [20].

Отдельные пыльники начинали формировать каллус очень рано – через 15 дней после инокуляции. При еженедельной трансплантации каллусных агрегатов на регенерационную среду за шесть недель получалось до пяти-шести пассажей. Все они рассматривались в нашем опыте как один единый каллус. Однако на некоторых пассажах каллуса, например, на первом и четвертом, могли не формироваться зеленые почки, а на других образовывались зеленые регенеранты. При этом на каллусе одного пассажа могли быть только гаплоидные регенеранты, а на другом только дигаплоиды. Но чаще всего встречались каллусные агрегаты с различным сочетанием зеленых регенерантов: могли быть дигаплоиды и гаплоиды, или дигаплоиды, триплоиды и погибшие растения, возможны любые комбинации.

Регенерация продолжалась до конца весны 2015 года. Созревание последних регенерантов пришлось на зиму 2015-2016 годов. В результате было получено 1536 линий риса 17 гибридных растений восьми гибридов. Каллусы, полученные в культуре пыльников *in vitro* двух гибридных растений F_1 и семи гибридных растений F_2 , продуктивных регенерантов не сформировали.

Таблица 2

Регенерация 24 гибридных растений на среде N₆-рк после двух вариантов питательных сред

Показатель	Среда N ₆ -1			Среда Mix		
	Каллусы с регенерантами, %	Каллусы с зелеными регенерантами, %	Число зеленых регенерантов на каллус, шт.	Каллусы с регенерантами, %	Каллусы с зелеными регенерантами, %	Число зеленых регенерантов на каллус, шт.
Среднее значение признака	41,6	20,5	4,47	40,0	11,2	5,66
Стандартное отклонение	20,3	16,0	6,27	25,7	11,3	14,55
Минимальное значение	18,5	0	0	0	0	0
Максимальное значение	80,0	50,0	21,3	75,0	37,5	14,6

Примечание. $t=0,24$ при $p=0,809$ для средних значений каллусов с регенерантами; $t=2,21^*$ при $p=0,032$ для средних значений каллусов с зелеными регенерантами; $t=0,36$ при $p=0,720$ для числа зеленых регенерантов на каллус

Таблица 3

Фракции регенерантов гибрида 20*КТ(2)

Показатель	Гаплоиды	Дигаплоиды	Тетраплоиды	Растения без семян	Погибшие растения
Среднее число, шт.	6,4	21,6	0,2	1,5	3,2
Доля от общего числа, %	19,4	65,5	0,7	4,7	9,8
Стандартная ошибка среднего значения	5,3	10,1	0,2	0,7	1,1
Максимальное число, шт.	69	112	2	9	14

Регенерантные линии характеризовались различными показателями хозяйственно ценных признаков. Многие линии имели высокую озерненность метелки и выполненность зерновки. Большинство линий гибридного растения Д*70 (2) были осыпавшимися.

По результатам исследований сделаны следующие выводы:

1. Питательная среда N₆-1 является более приемлемой для культуры пыльников дальневосточных гибридов риса в сравнении со средой Mix-1, так как после нее образуется на регенерационной среде больше каллусов с зелеными регенерантами, и, в конечном счете, больше зеленых побегов;

2. Доля продуктивных андроклиных регенерантов составляет 45,5-65,5 % от общего числа зеленых регенерантов;

3. Получено 1536 регенерантных линий из восьми гибридов риса F₂, характеризующихся по визуальной оценке различными показателями хозяйственно ценных признаков.

Заключение

В Приморском НИИСХ создана схема селекционного процесса риса с использованием на первых этапах дигаплоидных линий, которые в перспективе помогут интенсифицировать селекцию этой ценной крупяной культуры на российском Дальнем Востоке.

Благодарности. Авторы выражают глубокую признательность руководству и сотрудникам лаборатории селекции риса ФГБНУ «Приморский НИИСХ» за предоставленные семена гибридов риса.

Список литературы

1. Бушман, Н.Ю. Эффективность питательных сред для индукции каллусообразования у гибридов риса / Н.Ю. Бушман, С.А. Верещагина // Рисоводство. – 2013. – № 1(22). – С. 13-16.
2. Гончарова, Ю.К. Использование культуры пыльников в селекции риса в Китае: Обзор / Ю.К. Гончарова // Рисоводство. – 2005. – № 7. – С. 8-12.
3. Гончарова, Ю.К. Использование культуры пыльников для закрепления гетерозисного эффекта у гибридов риса *Oryza sativa* L. / Ю.К. Гончарова, Е.М. Харитонов // Биология клеток растений *in vitro* и биотехнология: сборник статей X Международной конференции. – Казань, 2013. – С. 26-29.
4. Гончарова, Ю.К. Использование метода культуры пыльников в селекции риса / Ю.К. Гончарова. – Краснодар: ВНИИ риса, 2012. – 91 с.
5. Гончарова, Ю.К. Наследование признака «отзывчивость на культуру пыльников» у риса / Ю.К. Гончарова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2008. – № 2. – С. 40-42.
6. Гончарова, Ю.К. Природа гетерозисного эффекта / Ю.К. Гончарова, Е.М. Харитонов, Е.В. Литвинова // Доклады Россельхозакадемии. – 2010. – № 4. – С. 10-12.
7. Гончарова, Ю.К. Сравнительный анализ эффективности питательных сред для индукции каллусообразования у гибридов риса / Ю.К. Гончарова, Е.М. Харитонов, Н.Ю. Бушман, С.А. Верещагина // Доклады Россельхозакадемии. – 2013. – № 6. – С. 6-9.
8. Гученко, С.С. Сравнительная характеристика и отбор дигаплоидных линий риса по хозяйственно ценным признакам / С.С. Гученко // Дальневосточный аграрный вестник. – 2016. – № 1. – С. 10-15.
9. Илюшко, М.В. Создание исходного материала для селекции риса методом культуры пыльников *in vitro* на российском Дальнем Востоке / М.В. Илюшко // Роль аграрной науки в обеспечении продовольственной безопасности дальневосточного региона (к 40-летию Приморского НИИСХ): сб. науч. ст. по материалам науч.-практич. конф. – Владивосток: Дальнаука, 2016. – С. 75-79.
10. Илюшко, М.В. Эффективность питательных сред при получении регенерантов в культуре пыльников риса *in vitro* / М.В. Илюшко // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2015. – № 4. – С. 60-62.
11. Каталог сортов риса и овощебахчевых культур кубанской селекции: справочно-методическое издание / ВНИИ риса. – Краснодар, 2016. – С. 47-59.
12. Костылев, П.И. Биотехнология и оценочный этап селекции риса (обзор) / П.И. Костылев // Зерновое хозяйство России. – 2009. – № 1. – С. 25-30.
13. Круглова Н.Н. Инновационная биотехнология андроклиной гаплоидии яровой мягкой пшеницы: эмбриологический подход / Н.Н. Круглова // Аграрная Россия. – 2009. – № 1. – С. 34-38.
14. Кучеренко, Л.А. Использование методов биотехнологии в селекции риса / Л.А. Кучеренко, П.Н. Харченко, Е.Н. Ковалева // Состояние и перспективы развития сельскохозяйственной биотехнологии: материалы Всесоюз. конф., Москва, июнь, 1986. – Л., 1986. – С. 92-96.
15. Малышева, Н.Н. Получение, оценка и отбор дигаплоидных линий риса с хозяйственно ценными признаками / Н.Н. Малышева, Е.Г. Савенко, В.А. Глазырина, Л.А. Шундрин // Рисоводство. – 2012. – № 2. – С. 14-18.
16. Першина, Л.А. Изучение особенностей андрогенеза в культуре пыльников сортов и перспективной формы яровой мягкой пшеницы западносибирской селекции, различающихся наличием или отсутствием пшенично-чужеродных транслокаций / Л.А. Першина, Т.С. Осадчая, Е.Д. Бадаева [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т.17, № 1. – С. 40-49.
17. Савенко, Е.Г. Использование метода культуры пыльников для создания исходного материала сельскохозяйственных культур / Е.Г. Савенко, С.В. Королева, Ж.М. Мухина [и др.] // Рисоводство. – 2016. – № 1-2 (30-31). – С. 76-79.
18. Bishnoi, U.S. High frequency androgenesis in *indica* * Basmati rice hybrids using liquid culture media / U.S. Bishnoi, R.K. Jain, K.R. Gupta [et al.] // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 1995. – Vol. 61. – P. 153-159.
19. Chu, C. The N₆ medium and its applications to anther culture of cereal crops / C. Chu // Proceedings of the Symposium on Plant Tissue Culture. – Peking : Science Press, 1978. – P. 43-50.
20. Datta, S.K. Androgenic haploids: factors controlling development and its application in crop improvement / S.K. Datta // Current Science. – 2005. – Vol. 89, № 11. – P. 1870-1878.
21. Dunwell, J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation / J.M. Dunwell // Plant Biotechnology Journal. – 2010. – Vol. 8. P. – 377-424.
22. Germana, M.A. Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding / M.A. Germana // Plant Cell. Rep. – 2011. – Vol. 30. – P. 839-857.

23. Lentini, Z. Androgenesis of highly recalcitrant rice genotypes with maltose and silver nitrate / Z. Lentini, P. Reyes, C.P. Martinex, W.M. Roca // *Plant Sci.* – 1995. – Vol. 110. – P. 127-138.
24. Miah, M.A.A. Inheritance of callus formation ability in anther culture of rice, *Oryza sativa* L. / M.A.A. Miah, E.D. Earle, G.S. Khush // *Theor. Appl. Genet.* – 1985. – Vol. 70. – P. 113-116.
25. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures / T. Murashige, F. Skoog // *Physiol. Plant.* – 1962. – Vol. 15. – P. 473-497.
26. Murovec, J. Haploid and double haploids in plant breeding / J. Murovec, B. Bohanec // *Plant breeding* / ed. I. Abdurakhmonov. – Rijeka, Croatia: InTech, 2012. – Ch. 5. – P. 87-106.
27. Smykal, P. Pollen embryogenesis – the stress mediated switch from gametophytic to sporophytic development. Current status and future prospects / P. Smykal // *Biologia Plantarum.* – 2000. – Vol. 43, № 4. – P. 481-489.
28. Yamamoto, T. A study of somaclonal variation for rice improvement induced by three kinds of anther-derived cell culture techniques / T. Yamamoto, Y. Soeda, A. Nishikawa, H. Hirohara // *Plant Tissue culture letters.* – 1994. – Vol. 11, № 2. – P. 116-121.

Reference

1. Bushman, N.Yu., Vereshchagina, S.A. Effektivnost' pitatel'nykh sred dlya induktsii kallusoobrazovaniya u gibridov risa (The Effectiveness of Nutrient Mediums for the Induction of Callusing of Rice Hybrids), *Risovodstvo*, 2013, No 1(22), PP. 13-16.
2. Goncharova, Yu.K. Ispol'zovanie kul'tury pyl'nikov v selektsii risa v Kitae: Obzor (The Use of Anther Culture in Breeding of Rice in China: Overview), *Risovodstvo*, 2005, No 7, PP. 8-12.
3. Goncharova, Yu.K., Kharitonov, E.M. Ispol'zovanie kul'tury pyl'nikov dlya zakrepleniya geterozisnogo effekta u gibridov risa *Oryza sativa* L. (The Use of Anther Culture for Fixing the Heterosis Effect in the Hybrids of Rice *Oryza sativa* L.), *Biologiya kletok rastenii in vitro i biotekhnologiya, sbornik statei X Mezhdunarodnoi konferentsii (Kazan', 14-18 oktyabrya 2013 g.)*, Kazan', Kazanskii institut biokhimii i biofiziki, 2013, PP. 26-29.
4. Goncharova, Yu.K. Ispol'zovanie metoda kul'tury pyl'nikov v selektsii risa (Using the Method of Anther Culture in Breeding of Rice), *Krasnodar, VNII risa*, 2012, 91 p.
5. Goncharova, Yu.K. Nasledovanie priznaka «otzyvchivost' na kul'turu pyl'nikov» u risa (Inheritance of Symptom of "Responsiveness to Anther Culture" at Rice), *Vestnik Rossiiskoi akademii sel'skokhozyaistvennykh nauk*, 2008, No 2, PP. 40-42.
6. Goncharova, Yu.K., Kharitonov, E.M., Litvinova, E.V. Priroda geterozisnogo effekta (The Nature of Heterosis Effect), *Doklady Rossel'khozakademii*, 2010, No 4, PP. 10-12.
7. Goncharova, Yu.K. Sravnitel'nyi analiz effektivnosti pitatel'nykh sred dlya induktsii kallusoobrazovaniya u gibridov risa (Comparative Analysis of the Effectiveness of Nutrient Mediums for the Induction of Callusing of the Rice Hybrids), Yu.K. Goncharova [i dr.], *Doklady Rossel'khozakademii*, 2013, No 6, PP. 6-9.
8. Guchenko, S.S. Sravnitel'naya kharakteristika i otbor digaploidnykh linii risa po khozyaistvenno tsennym priznakam (Comparative Characteristics and Selection Dihaploid Lines of Rice for Economically Valuable Traits), *Dal'nevostochnyi agrarnyi vestnik*, 2016, No 1, PP. 10-15.
9. Ilyushko, M.V. Sozдание iskhodnogo materiala dlya selektsii risa metodom kul'tury pyl'nikov in vitro na rossiiskom Dal'nem Vostoke (Creating Initial Material for Breeding of Rice by the Method of Anther Culture IN VITRO in the Russian Far East), *Rol' agrarnoi nauki v obespechenii prodovol'stvennoi bezopasnosti dal'nevostochnogo regiona (k 40-letiyu Primorskogo NIISKh)*, sb. nauch. st. po materialam nauch.-praktich. konf. Vladivostok, *Dal'nauka*, 2016, PP. 75-79.
10. Ilyushko, M.V. Effektivnost' pitatel'nykh sred pri poluchenii regenerantov v kul'ture pyl'nikov risa in vitro (The Efficiency of Culture Mediums in Obtaining Regenerants in Anther Culture of Rice IN VITRO), *Vestnik rossiiskoi sel'skokhozyaistvennoi nauki*, 2015, No 4, PP. 60-62.
11. Katalog sortov risa i ovoshchebakhchevykh kul'tur kubanskoi selektsii: spravochno-metodicheskoe izdanie (Directory of Rice Varieties, Vegetable and Melon Crops Breeding Kuban: Guidance Publication), *VNII risa, Krasnodar*, 2016, PP. 47-59.
12. Kostylev, P.I. Biotekhnologiya i otsenochnyi etap selektsii risa (obzor) (Biotechnology and the Evaluation Stage of the Rice Selection (Review)), *Zernovoe khozyaistvo Rossii*, 2009, No1, PP. 25-30.
13. Kruglova, N.N. Innovatsionnaya biotekhnologiya androklinnoi gaploidii yarovoi myagkoi pshe-nitsy: embriologicheskii podkhod (Innovative Biotechnology Androclinal of Haploid Spring Wheat: Embryological Approach), *Agrarnaya Rossiya*, 2009, No 1, PP. 34-38.

14. Kucherenko, L.A., Kharchenko, P.N., Kovaleva, E.N. Ispol'zovanie metodov biotekhnologii v selektsii risa (The Use of Biotechnological Methods in Breeding of Rice), Sostoyanie i perspektivy razvitiya sel'skokhozyaistvennoi biotekhnologii: materialy Vsesoyuz. konf. (Moskva, iyun' 1986), L., 1986, PP. 92-96.
15. Malysheva, N.N. Poluchenie, otsenka i otbor digaploidnykh linii risa s khozyaistvenno tsennymi priznakami (The Receiving, Assessment and Selection of Dihaploid Lines of Rice with Economically Important Traits), N.N. Malysheva [i dr.], Risovodstvo, 2012, No 2, PP. 14-18.
16. Pershina, L.A. Izuchenie osobennosti androgeneza v kul'ture pyl'nikov sortov i perspektivnoi formy yarovoi myagkoi pshenitsy zapadnosibirskoi selektsii, razlichayushchikhsya nalichiem ili otsutstviem pshenichno-chuzherodnykh translokatsii (The Study of Features of Androgenesis in Anther Culture Varieties and Promising Forms of Spring Soft Wheat Breeding Siberian, Differing by the Presence or Absence of Wheat-Alien Translocations), L.A. Pershina, [i dr.], Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii, 2013, T.17, No 1, PP. 40-49.
17. Savenko, E.G. Ispol'zovanie metoda kul'tury pyl'nikov dlya sozdaniya iskhodnogo materiala sel'skokhozyaistvennykh kul'tur (Using the Method of Anther Culture to Create the Original Material of Agricultural Crops), E.G. Savenko [i dr.], Risovodstvo, 2016, No 1-2 (30-31), PP. 76-79.
18. Bishnoi, U.S. High frequency androgenesis in indica * Basmati rice hybrids using liquid culture media, U.S. Bishnoi, R.K. Jain, K.R. Gupta [et al.], Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1995, Vol. 61, P. 153-159.
19. Chu, C. The N6 medium and its applications to anther culture of cereal crops, C. Chu, Proceedings of the Symposium on Plant Tissue Culture, Peking: Science Press, 1978, P. 43-50.
20. Datta, S.K. Androgenic haploids: factors controlling development and its application in crop improvement, S.K. Datta, Current Science, 2005, Vol. 89, No 11, P. 1870-1878.
21. Dunwell, J.M. Haploids in flowering plants: origins and exploitation, J.M. Dunwell, Plant Biotechnology Journal, 2010, Vol. 8., P. 377-424.
22. Germana, M.A. Gametic embryogenesis and haploid technology as valuable support to plant breeding, M.A. Germana, Plant Cell. Rep., 2011, Vol. 30, P. 839-857.
23. Lentini, Z. Androgenesis of highly recalcitrant rice genotypes with maltose and silver nitrate, Z. Lentini, P. Reyes, C.P. Martinex, W.M. Roca, Plant Sci., 1995, Vol. 110, P. 127-138.
24. Miah, M.A.A. Inheritance of callus formation ability in anther culture of rice, *Oryza sativa* L., M.A.A. Miah, E.D. Earle, G.S. Khush, Theor. Appl. Genet., 1985, Vol. 70, P. 113-116.
25. Murashige, T. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, T. Murashige, F. Skoog, Physiol. Plant., 1962, Vol. 15, P. 473-497.
26. Murovec, J. Haploid and double haploids in plant breeding, J. Murovec, B. Bohanec, Plant breeding, ed. I. Abdurakhmonov, Rijeka, Croatia: InTech, 2012, Ch. 5, P. 87-106.
27. Smykal, P. Pollen embryogenesis – the stress mediated switch from gametophytic to sporophytic development. Current status and future prospects, P. Smykal, Biologia Plantarum, 2000, Vol. 43, No 4, P. 481-489.
28. Yamamoto, T. A study of somaclonal variation for rice improvement induced by three kinds of anther-derived cell culture techniques, T. Yamamoto, Y. Soeda, A. Nishikawa, H. Hirohara, Plant Tissue culture letters, 1994, Vol. 11, No 2, P. 116-121.

УДК 633.18:631.5(526.32)
ГРНТИ 68.35.29, 68.35.03

Клименкова Т.Г. канд. с.-х. наук, директор НИОС риса;
Михалик Т.А. канд. с.-х. наук, завлабораторией селекции риса,
Приморская научно-исследовательская опытная станция риса,
с. Новосельское, Спасский район, Приморский край, Россия
E-mail: primnios@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ РИСА В ПРИМОРСКОМ КРАЕ С ПОВЫШЕННЫМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА И АМИЛОЗЫ

В статье рассматриваются результаты изучения исходного материала для получения сортов риса с повышенным содержанием белка и амилозы. Установлено, что в Приморье получены четыре сорта риса с повышенным содержанием амилозы и четыре гибридных формы с содержанием белка более восьми процентов: Musa x Азиат, Приморский 29, Panah x Дельта, (Приморский 29 x Стодневный) x Восход, Малыш x Воронежский 3. По содержанию амилозы (более 21,0%) сорта: Новосельский, Приморский 29, Уссур, Arsenal. В статье выделены отдельные вопросы по использованию гибридов и сортов в качестве доноров при гибридизации для селекционных программ: на признак высокой стекловидности и ароматному запаху каши сорт Новосельский, по повышенному содержанию незаменимых аминокислот сорт Приморский 29, на признак устойчивости к трещинообразованию и высокому выходу крупы сорт Малыш.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ГИБРИД, СОРТ, БЕЛОК, АМИЛОЗА, ЭКОЛОГИЯ, ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА, АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ

UDC 633.18:631.5(526.32)

Klimenkova T.G., Cand.Agr.Sci., Director;
Mikhailik T.A., Cand. Agr. Sci., Head of the Laboratory of Rice Breeding,
Primorskaya Research Experimental Station for Rice Breeding,
Novoselskoye Village, Spasskiy District, Primorskiy Territory, Russia
E-mail: primnios@mail.ru

STUDY OF THE BASE LINE FOR RICE BREEDING WITH ENHANCED PROTEIN AND AMYLOSE CONTENT ON THE PRIMORSKIY TERRITORY

The article examines findings of investigations on the base line for breeding of rice varieties having enhanced protein and amylose content. It has been found that in Primorye they have grown four rice varieties having enhanced content of amylose and four hybrid forms having protein content exceeding eight percent: Musa x Asiat, Primorskiy29, Panah x Delta, (Primosky29 x Stodnevnyi) x Voskhod, Malysh x Voronezhskiy 3. As for amylose content (more than 21.0%), they are (varieties): Novoselsky, Primorskiy 29, Ussur, Arsenal. The article singles out some questions on the use of hybrids and varieties as donors in hybridization for breeding programs: for the indication of high glassiness and fragrant smell of porridge-variety Novoselskiy, according to the high content of essential amino acids-Primorskii variety 29, on the indication of resistance to cracking and high yield of cereals – Malysh variety.

KEYWORDS: HYBRID, VARIETY, PROTEIN, AMYLOSE, ECOLOGY, TECHNOLOGICAL ASSESSMENT, AMINO ACID COMPOSITION

Рис является одной из главных зерновых культур, возделываемых в мире. Благодаря высокой урожайности и энергетической ценности его зерном питается свыше

двух миллиардов людей [1]. Он выращивается на площади более 160 млн. га и объем мирового производства составляет 750 млн. тонн, при средней урожайности 4,5 – 4,7 т/га