

УДК: 631.527:633:574

## НОВЫЙ МЕТОД ЗАЩИТЫ РИСА ОТ СОРНЫХ РАСТЕНИЙ С ПОМОЩЬЮ ДЛИТЕЛЬНОГО ПОГРУЖЕНИЯ В ВОДУ

П.И. Костылев\*, В.А. Голубова, Н.Н. Вожжова, Н.В. Калинина  
ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской», Зерноград, Россия

\*Эл. почта: p-kostylev@mail.ru

Статья поступила в редакцию 24.10.2022; принята к печати 28.10.2022

В статье представлены результаты изучения толерантности риса к длительному погружению в воду и способности энергичного роста из-под слоя воды. Устойчивость сортов к затоплению очень актуальна в России при борьбе с сорными растениями за счет глубокого слоя воды, который сорняки не могут преодолеть. Цель исследования: оценка физиологических параметров, оказывающих влияние на толерантность риса к длительному погружению в воду и способность энергичного роста из-под слоя воды. Для исследований отобраны образцы, которые получены в лаборатории селекции и семеноводства риса АНЦ «Донской» от скрещивания отечественных сортов с азиатскими донорами генов устойчивости к затоплению. Исследования проводили с использованием нескольких лабораторных методов. В результате физиологической оценки 180 сортов и образцов риса выявлены формы, имеющие наибольший потенциал роста и развития. Раскрыт потенциал определенных сортов, накапливать максимальную вегетативную массу. Получен обширный материал, имеющий теоретическую и практическую значимость для усовершенствования селекционного процесса.

**Ключевые слова:** рис, сорт, толерантность к затоплению, физиологические методы, всхожесть, энергия прорастания, сила роста.

## A NEW METHOD OF PROTECTING RICE FROM WEEDS BY LONG IMMERSION IN WATER

P.I. Kostylev\*, V.A. Golubova, N.N. Vozzhova, N.V. Kalinina  
Agricultural Research Center "Donskoy", Zernograd, Russia

\*E-mail: p-kostylev@mail.ru

The article presents the results of studying the tolerance of rice to prolonged immersion in water and the ability of vigorous growth from under the water layer. The resistance of varieties to flooding is very relevant in Russia in the fight against weeds due to the deep layer of water that weeds cannot overcome. The aim of the study was to evaluate the physiological parameters that affect the tolerance of rice to prolonged immersion in water and the ability of vigorous growth from under the water layer. For research, samples were selected that were obtained in the laboratory of rice breeding and seed production at the Agricultural Research Center "Donskoy" from crossing domestic varieties with Asian donors of flood resistance genes. The studies were carried out using several laboratory methods. As a result of the physiological evaluation of 180 varieties and samples of rice, the forms with the greatest potential for growth and development were identified. The potential of certain varieties to accumulate vegetation mass has been revealed. Extensive material has been obtained that has theoretical and practical significance for improving the breeding process.

**Keywords:** rice, variety, tolerance to flooding, physiological methods, germination, germination energy, growth force.

### Введение

В мире рис часто подвергается затоплению, особенно в зоне тропиков и субтропиков, в результате наводнений на короткий период от нескольких дней до двух недель. В результате этого посева неустойчивых сортов гибнут, происходит потеря урожая. Поэтому придается большое значение повышению устойчивости риса к затоплению [1; 2]. Устойчивость сортов к затоплению очень актуальна в России при борьбе с сорными растениями за счет глубокого слоя воды, который сорняки преодолеть не могут [3; 4]. Это приводит к таким положительным эффектам как: ненужность применения гербицидов, снижение затрат на производство единицы продукции, повышение качества получаемой продукции, которая может использоваться при производстве продуктов для детского и диетического питания, и отсутствие ущерба окружающей среде [5; 6].

Такое разностороннее и целенаправленное использование данного признака привело к тому, что были идентифицированы гены, его контролируемые (Sub1A, Sk, AG), однако они придают устойчивость к затоплению на различных этапах развития растений, в связи с чем возникает вопрос о целесообразности их использования при создании сортов, адаптированных к безгербицидной технологии возделывания, где особое значение придается устойчивости к затоплению именно на ранних этапах развития растения, сразу после посева [7; 8; 9].

В настоящее время в России не имеется районированных сортов, которые отвечали бы данным требованиям. Поэтому проблема создания таких сортов риса является актуальной, так как позволит уменьшить затраты на производство, снизить потери зерна при уборке, улучшить качество получаемой продукции, а также снизить пестицидную нагрузку на экосистему [10; 11].

Таким образом, исследования устойчивости риса к затоплению и развитие методологии в данной области является важной фундаментальной проблемой для этой культуры.

В результате проведения исследования планируется получить обширный материал, имеющий теоретическую и практическую значимость для усовершенствования селекционного процесса.

**Цель исследования:** оценка физиологических параметров, оказывающих влияние на толерантность риса к длительному погружению в воду и способность энергичного роста из-под слоя воды.

### Материал и методы исследования

Для исследований отобраны 180 сортов и образцов риса, которые получены в лаборатории селекции и семеноводства риса АНЦ «Донской» от скрещивания отечественных сортов с азиатскими донорами генов устойчивости к затоплению. Лocus устойчивости к затоплению Sub1A перенесли от доноров: Вг-11, CR-1009, Inbara-3, TDK-1, Khan Dan.

Лабораторные исследования проводятся с использованием нескольких физиологических методов.

1) Оценка устойчивости образцов риса к глубокому затоплению методом проращивания в условиях стресса.

Образцы для проверки в лабораторных условиях высеваются сухими семенами в лизиметры, содержащие слой почвы, в количестве 20 шт./повторность с глубиной заделки около 5 мм, каждый образец в отдельном ряду. После посева лизиметры заливаются слоем воды глубиной 10 см, которая поддерживается в течение 3 недель, после чего определяется процент проросших семян и выживших растений, которые достигли поверхности воды. Для изучения динамики развития проводятся подсчеты и замеров размеров проростков на 5-й, 7-й, 9-й, 12-й и 14-й день после затопления. Контрольные образцы проращиваются в чашках Петри для подтверждения 100 % всхожести семян.

2) Изучение энергии прорастания семян и всхожести семян.

Семена риса перед закладкой на сутки замачиваются в воде 20°C. В рабочую камеру термостата ставят поддон с водой, растительный моют и ополаскивают 1-% раствором марганцовокислого калия, затем омывают водой. Семена раскладывают на двойной фильтровальной бумаге, зародышем вниз. Пробам присваивают регистрационный номер. Проращиваются пробы 8 часов при температуре 30°C и 16 часов 20°C. Энергия прорастания оценивается на 4 сутки, всхожесть на 10 сутки. В результате оценки выявляются сорта, имеющие наибольший потенциал роста и развития.

**Результаты и обсуждение**

В процессе изучения образцов коллекции и перспективных селекционных линий лаборатории селекции и семеноводства риса АНЦ «Донской» проведена оценка данного материала по устойчивости к затоплению. Толерантность к затоплению или анаэробная толерантность характеризуется способностью растений восстановиться после затопления на разных этапах развития. Восстановление включает в себя регенерацию растений, поврежденных внезапным затоплением. Основой толерантности к затоплению является высокое начальное содержание углеводов, высокий уровень хлорофилла и минимальный рост в условиях погружения.

Был проведен опыт по проращиванию семян риса в пробирках со слоем воды для оценки устойчивости риса к длительному затоплению при анаэробном прорастании. Семена помещали в стеклянную пробирку (2,5 см в диаметре и 15 см в высоту), заливали дистиллированной водой глубиной 10 см и инкубировали при температуре 28°C, не меняя воду. На 5-й, 7-й, 9-й, 12-й и 14-й день измеряли длину проростка (ростка и корешка).

Контрольным вариантом было аэробное прорастание на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри при температуре 28°C в темноте (рис. 1).

Было установлено, что всхожесть семян риса варьировала от 60 до 100 %. Из 180 образцов у 156 проросли все заложенные семена, у 20-ти – 80 % и у 4-х – 60 %. Анализ аэробного прорастания в чашках Петри показал, что на 10 день закладки опыта длина ростка у образцов колебалась от 2,4 до 7,4 см. Гистограмма распределения образцов по величине этого признака была с правосторонней асимметрией (рис. 2).

Преобладали образцы с небольшой длиной – 3-4 см. Максимальные значения средней длины ростка 7,4 см были у линий 1191 (Inbara - 3 x Контакт) x Khao Hlan On x Кубояр и 1544 R6 (Kharsu 80A) x Контакт. Их родительские формы Khao Hlan On x Кубояр и Kharsu 80A являются очень быстро растущими сортами. Величина средней длины корешка варьировала в интервале от 2,2 до 15,3 см, график распределения имел правостороннюю асимметрию (рис. 3).



Рис. 1. Опыт по всхожести и энергии роста семян риса

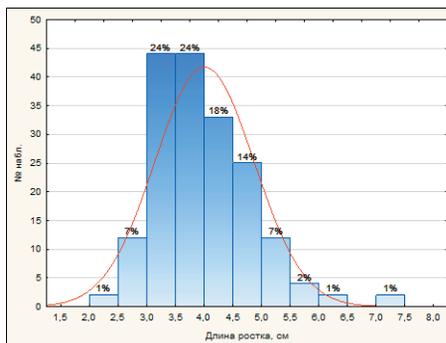


Рис. 2. Распределение образцов риса по длине ростка, см

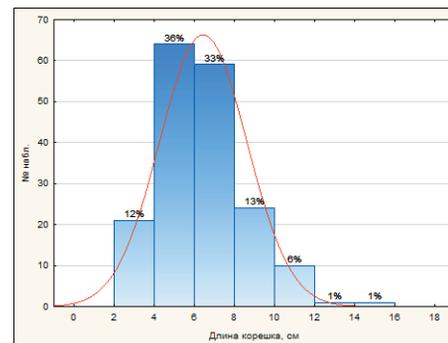


Рис. 3. Распределение образцов риса по длине корешка, см

Преобладали образцы с величиной признака 4-8 см. Максимальная длина корешка отмечена у линий 1191 (Inbara - 3 x Контакт) x (Khao Hlan On x Кубояр) (15,3 см) и 2032 KD Sub-1 Д-149 x Командор (13,8 см).

Сопоставление длины ростка и корешка у образцов риса показало, что корреляция между ними слабая ( $r=0,10 \pm 0,05$ ). Один образец (1191) имел максимальные значения длины обоих компонентов проростка. Образец 2032 сформировал длинный корешок (13,8 см), но средний росток (3,9 см), другой образец 1544, наоборот – длинный росток (7,4 см), но короткий корешок (4,9 см), большая часть образцов показала средние и низкие величины признаков (рис. 4).

По массе проростка образцы варьировали от 54 до 184 мг (в среднем 100,8 мг). Распределение было симметричным, преобладали средние формы с массой 80-120 мг (рис. 5).

Один образец, 1537, R6(Kharsu 80A) x Контакт, резко отличался от остальных большой массой – 184 мг, хотя длина ростка (4,2 см), а длина корешка (8,1 см) были чуть больше среднего уровня. Это связано с большей толщиной проростков.

Часть образцов (84) изучали не только на всхожесть, но и на энергию роста, определяемую на 4-й день. Они также показали значительный полиморфизм по изученным признакам (табл. 1).

Всхожесть колебалась от 40 до 100 %, в среднем – 95,2 %. Длина ростка на 4-й день варьировала от 1,3 до 3,2 см, в среднем 2,2 см. Наибольшую энергию роста показали образцы: 5739, 5620-3 и 5576-3, длина ростков которых составила 3,0, 3,1 и 3,2 см соответственно. На 10-й день средняя длина ростков увеличилась до 7,6 см, т.е. в 3,5 раза, варьируя в пределах 3,5-11,4 см. Максимальные значения, более 10 см, показали уже другие образцы: 5618-3, 3325, 5519-4, 5588-1, 5444-4. Масса проростка варьировала от 34 до 117 мг.

Длина корешка на 4-й день варьировала от 2,2 до 8,0 см, в среднем 5,1 см. Самые длинные корешки сформировались у образцов 3325 и 5578-1 – 8,0 и 7,6 см, соответственно. На 10-й день корешки удлинились в среднем до 7,7 см (3,8-14,4 см). Максимальная их длина была у образцов 5541-1 и 5579-1.

Таким образом, было установлено, что изученные образцы риса существенно различались по энергии роста и линейным размерам проростков. Для преодоления глубокого слоя воды большой интерес представляют интенсивно растущие образцы с максимальной длиной ростков. Если растения не смогут преодолеть толстый слой воды, они погибнут от нехватки кислорода и питательных веществ.

Другая стратегия выживания растений риса при длительном затоплении заключается в остановке роста под водой, впадении в своеобразную спячку, а когда слой воды снизится, они продолжают свой рост и развитие. Поэтому был проведен опыт по проращиванию семян в пробирках из-под слоя воды 10 см (рис. 6).

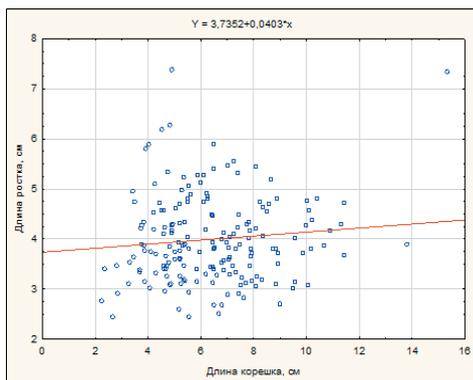


Рис. 4. Взаимосвязь длины ростка и корешка у образцов риса

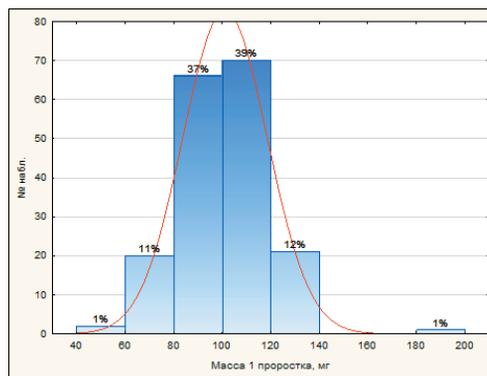


Рис. 5. Распределение образцов риса по массе проростка, мг



Рис. 6. Прорастание семян риса в пробирках

Табл. 1.

**Всхожесть и размеры проростков риса на 4-й и 10-й день проращивания в чашках Петри.**

Параметры	Всхожесть, %	Длина ростка, см		Длина корешка, см		Масса 1 проростка, мг
		4-й день	10-й день	4-й день	10-й день	
Минимум	40,0	1,3	3,5	2,2	3,8	34
Максимум	100,0	3,2	11,4	8,0	14,4	117
Среднее	95,2	2,2	7,6	5,1	7,7	84
Ст. откл.	11,9	0,4	1,6	1,2	2,1	17

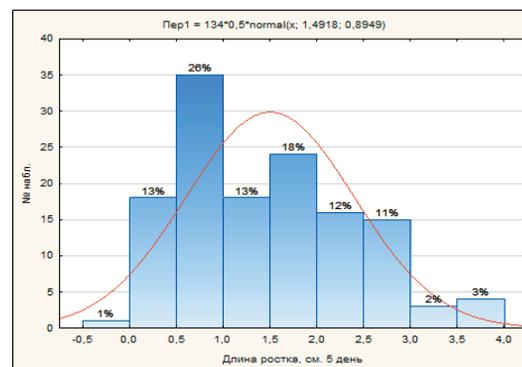


Рис. 7. Распределение сортов и линий риса по средней длине проростка при анаэробном проращивании

В результате исследований было установлено, что при анаэробном проращивании через 5 суток большинство изучаемых сортов и линий (71 %) имели среднюю длину ростка от 0,1 до 2,0 см, только 6 % обладали максимальной средней длиной ростков от 3,0 до 4,0 см (рис. 7).

Максимальное значение средней длины ростка в интервале от 3,0 до 4,0 см было у линий 1665 (Атлант x Нейтрон), 1176 (Inbara -3 (Sub-1) x Новатор x Контакт) и 1337 ((BR-11 x Новатор) x Кубань).

Большинство линий не имели корней. Только у трех линий был обнаружен проросший корешок, его длина составила от 2-3 мм.

При аноксии проросток риса удлиняет междоузлие и формирует в первую очередь росток, более длинный, чем при аэробном проращивании, чем и обуславливается незначительное развитие или отсутствие корешка у большинства растений риса. В процессе исследования 19 линий риса слабо проросли в пробирках, от 0,1 до 0,5 см, что дало предположение о наличии у них гена Sub 1A.

По данным изменения величины прироста образцов можно судить о наличии или отсутствии гена Sub 1A. Через 2 дня, т.е. на 7 день роста в пробирках длина ростка у образцов варьировала от 0,9 до 4,8 см, в среднем – 2,7 см (рис. 8). Минимальный прирост, или состояние покоя у изучаемых образцов свидетельствует о возможности присутствия в них гена Sub1A. Самый малый прирост длины ростка (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), 1337 (BR-11 x Новатор) x Кубань 3), 1176 (Inbara-3 x Новатор x Контакт), 767 (Inbara-3 x Контакт). У большинства из них в родословной имеется сорт Inbara-3, несущий в своем генотипе локус Sub1A

На 9-й день длина ростка варьировала от 1,8 до 7,0 см, в среднем 3,8 см (рис. 9). Наименьшая длина ростка (2,1-2,2 см) отмечена у образцов 766 (Inbara-3 x Контакт), 3137 (Inbara-3 x Степняк), 2407 (Бахус x Inbara-3).

Еще 25 образцов имели небольшую длину ростка до 3 см. Многие формы даже слабо формировали хлорофилл, были беловатыми. Чтобы они не погибли, уровень воды был снижен до 1 см (рис. 10). Это положительно повлияло на их дальнейший рост и развитие.

В их клетках активизировались аэробные процессы, нормализовался синтез ауксинов и гиббереллинов, в результате чего растения продолжили нормальный рост. На 12-й день длина проростка у образцов варьировала от 3,4 до 11,5 см, в среднем 6,3 см (рис. 11).

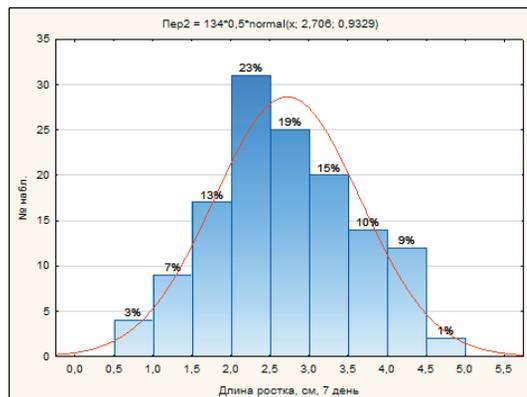


Рис. 8. Распределение сортов и линий риса по средней длине проростка при анаэробном проращивании на 7 день

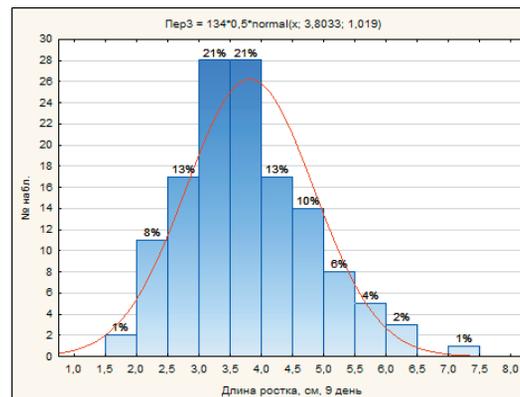


Рис. 9. Распределение сортов и линий риса по средней длине проростка при анаэробном проращивании на 9 день

Преобладали образцы с длиной ростка 3-7 см, их было 64%. Около 6% образцов быстро росли и преодолели слой воды в пробирке, выйдя на воздух. Это такие линии, как 2035 (KD Sub-1 Д-149 х Командор) и 350 (Inbara 3 х Новатор) х Контакт. Их длина составила 11,4 см. Однако интерес представляют и слабо растущие формы. В частности, образец 766 (Inbara-3 х Контакт) вырос лишь до 2,2 см, прибавив за 3 дня 1 мм. Это указывает на возможное наличие у него гена Sub1A.

Через 2 недели средняя длина проростков составила 8,6 см, варьируя от 3,0 до 16,5 см (рис. 12).

Самым высокорослым оказался образец 1191 [(Inbara-3 х Контакт) х (Khao Hlan On х Кубояр)] – 16,5 см, а низкорослым опять №766 – 3 см. По-видимому, образцу 1191 передан ген энергичного роста (AG) от сорта Khao Hlan On, а образцу 766 – ген Sub1A от сорта Inbara-3.



Рис. 10. Слабо прорастающие образцы со слитой водой

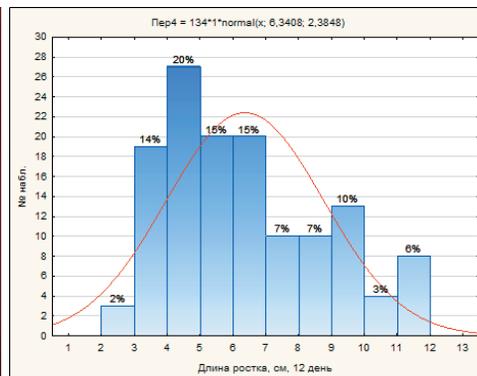


Рис. 11. Распределение сортов и линий риса по средней длине проростка при анаэробном прорастании на 12 день

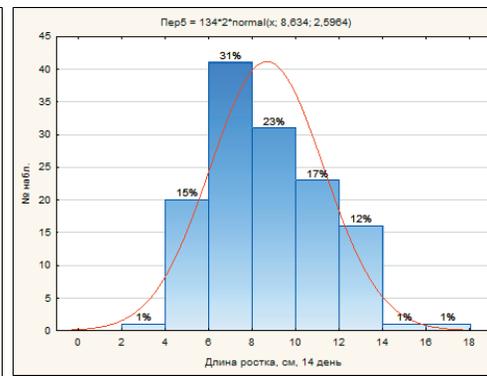


Рис. 12. Распределение сортов и линий риса по средней длине проростка при анаэробном прорастании на 14 день

### Выводы

1. В результате исследований дана оценка селекционному материалу риса в объеме 180 образцов по устойчивости к длительному затоплению слоем воды, энергии начального роста и наличию гена Sub1A.
2. Выделены образцы с минимальным приростом стебля (0,2-0,5 см) в анаэробных условиях: 1177, 3137, 2407, 1337, 1176, 767, которые имели в родословной сорт Inbara-3, несущий в своем генотипе локус Sub1A.
3. В результате физиологической оценки образцов риса выявлены образцы, имеющие наибольший потенциал роста и развития в условиях длительного затопления: 2035 (KD Sub-1 Д-149 х Командор), 350 (Inbara 3 х Новатор) х Контакт, 1191 [(Inbara-3 х Контакт) х (Khao Hlan On х Кубояр)]. Раскрыт потенциал определенных сортов быстро расти и преодолевать слой воды.

### Литература / References

1. Kawano N, Ito O, Sakagami J.I. Morphological and physiological responses of rice seedlings to complete submergence (flash flooding). *Ann Bot.* 2009;103:161-9.
2. Zhang Q. Strategies for developing Green Super Rice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007;104(42):16402-9.
3. Mittler R, Blumwald E. Genetic engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. *Annu Rev Plant Biol.* 2010;61:443-62.
4. Lawlor DW. Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. *J Exp Bot.* 2013;64(1):83-108.
5. Mickelbart MV, Hasegawa PM, Bailey-Serres J. Genetic mechanisms of abiotic stress tolerance that translate to crop yield stability. *Nat Rev Genet.* 2015;(1):1-15.
6. Barik SR, Pandit E, Pradhan SK, Mohanty SP, Mohapatara T. Genetic mapping of morpho-physiological traits involved during reproductive stage drought tolerance in rice. *PLoS One.* 2019;14(12). DOI: 10.1371/journal.pone.0214979
7. Fukao T, Yeung E, Bailey-Serres J. The submergence tolerance regulator sub1a mediates crosstalk between submergence and drought tolerance in rice. *Plant Cell.* 2011;23:412-27.
8. Jung KH, Seo YS, Walia H, Cao P, Fukao T, Canlas PE, Amonpant F, Bailey-Serres J, Ronald PC. The submergence tolerance regulator sub1a mediates stress-responsive expression of ap2/erf transcription factors. *Plant Physiol.* 2010;152:1674-92.
9. Niroula RK, Pucciariello C, Ho VT, Novi G, Fukao T, Perata P. SUB1A-dependent and -independent mechanisms are involved in the flooding tolerance of wild rice species. *Plant J.* 2012;72:282-93.
10. Bin Rahman ANMR, Zhang JH. Flood and drought tolerance in rice: Opposite but may coexist. *Food Energy Security.* 2016;5(2):76-88. DOI: 10.1002/fes3.79
11. Singh R, Singh Y, Xalaxo S et al. From QTL to variety-harnessing the benefits of QTLs for drought, flood and salt tolerance in mega rice varieties of India through a multi-institutional network. *Plant Sci.* 2016;242:278-87. DOI: 10.1016/j.plantsci.2015.08.008

«»