

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В СЕЛЕКЦИИ РИСА НА ХОЛОДОУСТОЙЧИВОСТЬ

Е. В. Дубина^{1,2}, доктор биологических наук, профессор РАН, профессор кафедры генетики, селекции и семеноводства, lenakrug1@rambler.ru, ORCID ID: 0000-0002-8010-0137;

З. К. Кизи Олимова², магистр 2-го курса агрономического факультета

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный научный центр риса»,

350921, г. Краснодар, пос. Белозёрный, 3;

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Кубанский государственный аграрный университет» им. И.Т. Трубилина,
350044, г. Краснодар, ул. им. Калинина, д. 13

Низкие положительные температуры оказывают отрицательное влияние на все процессы, протекающие во всех стадиях развития растений риса. Особенно это сказывается в период прорастания семян и получения всходов, в результате чего снижается энергия и сила роста семян. Создание генотипов путем введения генов, обеспечивающих способность преодолевать этот эффект, – главная задача селекционеров. Применение в данном направлении специфических маркерных систем, позволяющих четко дифференцировать селекционные образцы на наличие/отсутствие целевых генов, в настоящее время является весьма актуальным. В связи с этим нами поставлена цель исследований – подобрать эффективную маркерную систему и разработать к ней оптимальный протокол (параметры) ПЦР-диагностирования, при котором можно было бы точно детектировать не только наличие целевых генов в анализируемых селекционных образцах, но и их аллельное состояние. Для идентификации количественных локусов (QTLs) в данном исследовании апробировано 3 маркерные системы, из которых высокую эффективность в выявлении полиморфизма между донорами показала одна – RM 1377. С ее использованием продиагностирована ПЦР-анализом сегрегирующая F₂-популяция и проведена в лабораторных условиях оценка по фенотипу. Статистический анализ позволил установить, что данный маркер сонаследуем. На его основе проскринирован экспериментальный предселекционный материал риса лаборатории физиологии ФНЦ риса. Выделены образцы, имеющие донорные аллели целевых генов, которые в дальнейшем будут переданы в селекционный процесс для изучения по комплексу морфометрических характеристик и хозяйственно ценных признаков. Внедрение и использование данных SSR-маркеров в селекционный процесс ускорит создание элитных генотипов риса с повышенной холодостойкостью в период прорастания семян и образования всходов. Посев таких семян можно будет проводить в более ранние сроки. Это даст возможность получать оптимальные по густоте всходы и позволит значительно реализовывать их потенциальную продуктивность.

Ключевые слова: холодостойкость, гены, QTL, ПЦР-анализ, рис, сорт.

Для цитирования: Дубина Е. В., Олимова З. К. Кизи. Применение молекулярно-генетических методов в селекции риса на холодостойкость // Зерновое хозяйство России. 2025. Т. 17, № 1. С. 54–60. DOI: 10.31367/2079-8725-2025-96-1-54-60.



APPLICATION OF MOLECULAR GENETIC METHODS IN RICE BREEDING FOR COLD RESISTANCE

E. V. Dubina^{1,2}, Doctor of Biological Sciences, professor of RAS, professor of the department of genetics, breeding and seed production, lenakrug1@rambler.ru, ORCID ID: 0000-0002-8010-0137;

Z. K. Kizi Olimova², 2-nd year Master's student of the faculty of agronomy

¹FSBSI "Federal Research Center of rice"

350921, Krasnodar Krai, Krasnodar, v. of Belozerny, 3

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education

"Kuban State Agrarian University named after I. T. Trubilin",

350044, Krasnodar, Kalinin Str., 13

Low positive temperatures have a negative impact on all processes occurring at all stages of rice development. This is especially true during the period of seed germination and sprouting, resulting in reduced seed energy and growth strength. The development of genotypes by introducing genes that provide the ability to overcome this effect is a crucial task for breeders. The application of specific marker systems, which allow differentiating breeding samples for the presence/absence of target genes, is currently of great relevance. In this regard, the main purpose of the current study was to select an effective marker system and develop an optimal protocol (parameters) for PCR analysis, which would allow accurately detecting not only the presence of target genes in the analyzed breeding samples, but also their allelic state. In order to identify quantitative loci (QTLs) there were tested three marker systems, among which the only marker system 'RM 1377' showed high efficiency in identifying polymorphism between donors. Using it, a segregating F₂ population was diagnosed by PCR analysis and a phenotype estimation was carried out in laboratory. Statistical analysis allowed establishing that this marker was co-inherited. On its basis, there was screened experimental pre-breeding material of rice from the laboratory of physiology of the FRC of Rice. There have been identified samples with donor alleles of target genes, which will be further introduced into the breeding process to study them according to a set of morphometric characteristics and economically valuable traits. The introduction

and application of these SSR markers in the breeding process will improve the development of basic rice genotypes with better cold resistance during the period of seed germination and sprouting. Sowing of such seeds can be carried out at an earlier time. This will make it possible to obtain sprouts with optimal density and will significantly improve their potential productivity.

Keywords: cold resistance, genes, QTL, PCR analysis, rice, variety.

Введение. Традиционно рис относится к тропическим растениям и в настоящее время он возделывается в 120 странах между 49° с.ш. и 35° ю.ш. В нашей стране посевные площади этой культуры располагаются в самой северной зоне – между 46° с. ш. и 38° в.д., где на прорастание семян и получение всходов оказывают отрицательное влияние положительные низкие температуры.

Эффект от воздействия низких температур на рост и развитие растений риса проявляется на разных стадиях. Положительные низкие температуры снижают энергию роста семян, а также уменьшают фотосинтетическую активность, что приводит к обесцвечиванию листьев. Кроме того, данный эффект может влиять на снижение высоты растения риса, вызывая дегенерацию колосков метелки. Может привести к задержке выметывания, что влечет за собой снижение продуктивности, неравномерное вызревание зерновок и, соответственно, к снижению качества зерна (Скаженник и др., 2019; Костылев и др., 2004; Костылев и др., 2025).

В связи с этим актуальным является создание элитных форм риса, которые обладали бы толерантностью к данному эффекту (низким положительным температурам) в период образования всходов, не снижая при этом полевой всхожести, и имели повышенную силу роста семян. Использование в данном направлении современных методов молекулярной биологии весьма перспективно.

Рядом ученых установлено, что холодостойкость является комплексным полигенным признаком и детерминируется одновременным действием нескольких физиолого-биохимических механизмов, которые затрагивают различные метаболические процессы (Костылев и др., 2004; Скаженник и др., 2019; Guo Z. et al., 2022). Проведение поиска эффективных маркерных систем, четко детектирующих донорные аллели на данный признак, остается актуальной проблемой для генетики и селекции риса в этом направлении.

Цель работы – выявить информативную(-ые) ДНК-маркерную(-ые) систему(-ы), сцепленную(-ые) с признаком толерантности к низким положительным температурам в период прорастания семян и образования всходов.

Известно, что генотипы риса подвида *japonica* обладают повышенной толерантностью к низким положительным температурам по сравнению с генотипами подвида *indica* . Данный количественный признак контролируется на стадии проростков двумя генами – *Cts-1* , *Cts-2* (t), а в фазе трубкования – множественными генами. В работе Saito с коллегами представлено еще два количественных локуса на основе QTLs: *Ctb-1* , *Ctb-2* , которые ассоци-

ированы с длиной пыльника (Zang et al. 2025; Saito et al., 2010; Wang et al. 2018).

Li и др. идентифицировали двенадцать QTL ($P < 0,0001$) для оценки толерантности проростков (SR) риса при температуре 4°C (*qSR2-2* , *qSR3-1* , *qSR3-2* , *qSR3-3* и *qSR9* , *qSR2-1* , *qSR3-4* , *qSR3-5* , *qSR3-6* , *qSR3-7* , *qSR4* и *qSR7*). Среди этих QTL только *qSR9* , содержащий наиболее значимый SNP, подтвердил наибольшую фенотипическую вариабельность. С помощью биоинформатического анализа авторами было выявлено пять генов (*LOC_Os09g12440* , *LOC_Os09g12470* , *LOC_Os09g12520* , *LOC_Os09g12580* и *LOC_Os09g12720*), которые рекомендованы как кандидаты для идентификации *qSR9* (Li et al., 2021).

В связи с этим нами проведены поисковые работы эффективной маркерной системы, которая бы точно позволяла проводить дифференциацию толерантных генотипов риса к низким положительным температурам в период всходов на генетическом уровне.

Применение «современных инструментов» молекулярной биологии в селекции риса, а именно эффективных маркерных систем, которые точно дифференцируют исходный материал на устойчивые и неустойчивые формы и позволяют идентифицировать не только целевые гены, но и их аллельное состояние, крайне необходимо и важно на всех этапах селекционного процесса. Данный подход значительно снижает объемы селекционных питомников, позволяет отбирать только желаемые генотипы, имеющие гены-интереса, и значительно облегчает работу селекционерам. Внедрение таких маркерных систем в селекционные программы, направленные на создание генплазмы риса, толерантной к низким положительным температурам в период прорастания семян и получение всходов, значительно ускоряет данный процесс.

Повышение холодоустойчивости у отечественных сортов риса в период прорастания семян и получение всходов позволит начинать посев риса в более ранние сроки, используя для вегетации растений благоприятный по температуре период. Кроме того, это даст возможность получать дружные и оптимальные по густоте стояния всходы, что позволит в большей мере реализовывать потенциальную продуктивность сортов риса.

Материалы и методы исследований. В качестве доноров устойчивости к низким положительным температурам в период прорастания и всходов семян риса использовали сорта Краснодарской селекции – Кубань 3 и Северный. Кроме того, в исследованиях использованы растения гибридов второго поколения, полученные от скрещиваний отечественных сортов Новатор и Серпантин с сортами-донорами

в различных комбинациях. В качестве неустойчивых сортов использовали сорта Новатор, Серпантин и Ленарис.

При проведении молекулярно-генетического анализа геномную ДНК выделяли из листьев экспериментальных образцов риса модифицированным СТАВ-методом (Дубина, 2019).

Для выявления специфичных маркерных систем, ассоциированных с количественными локусами холодостойкости (QTLs: qPSST-3, qPSST-7 и qPSST-9, Sun J. et al., 2018), проводили классический ПЦР-анализ с праймерными парами, амплифицирующими ряд SSR-маркеров: RM 24545; RM 1377; RM 569, взятых из базы данных генетических ресурсов NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Последовательности праймеров и разработанный протокол режимов амплификации указаны в таблице 1.

Температуру отжига для каждой пары праймеров рассчитывали по формуле

$$T_a = 4 \text{ }^\circ\text{C} \times (G + C) + 2 \text{ }^\circ\text{C} \times (A + T) - 3,$$

где G, C, A, T – количество пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований согласно сиквенсу, который был взят из базы данных NCBI.

Затем проводили апробацию рассчитанной температуры для каждой пары праймеров и по необходимости корректировали ее на $\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ с целью достичь идеальных условий, при которых наблюдался бы высокий выход ампликонов.

Амплифицированные фрагменты фракционировали в 2%-м агарозном геле с добавлением 0,01 % бромистого этидия в 0,5-кратном ТАЕ-буфере при напряжении 120 V (30 мин).

Таблица 1. Состав праймеров, использованных в исследованиях, и протокол проведения ПЦР
Table 1. Composition of primers used in the study and the PCR protocol

Название SSR-маркера	Нуклеотидная последовательность (5' → 3')	Циклы реакции амплификации				
		начальная денатурация, T, °C/время/число циклов	денатурация T, °C/время/число циклов	отжиг праймеров T, °C/время/число циклов	синтез T, °C/время/число циклов	элонгация T, °C/время/число циклов
RM24545	F: 5'-ACAGCACAGCACCCGGAAGG-3'	94 °C 5 мин 1 цикл	94 °C 35 с	60 °C 45 с	72 °C 30 с	72 °C 5 мин 60 с 1 цикл
	R: 5'-CGAGCAACAGGAAGGCGATAAGC-3'		35 циклов			
RM1377	F: 5'-ATTAGATACATCAGCGGGGG-3'	94 °C 5 мин 1 цикл	94 °C 35 с	56 °C 60 с	72 °C 30 с	72 °C 5 мин 60 с 1 цикл
	R: 5'-GCTGCTGTACGATGTGATCC-3'		35 циклов			
RM 569	F: 5' GACATTCTCGCTTGCTCCTC-3'	94 °C 5 мин 1 цикл	94 °C 35 с	60 °C 45 с	72 °C 30 с	72 °C 5 мин 60 с 1 цикл
	R: 5'- TGTCCCTCTAAACCCTCC-3'		35 циклов			

Определение холодостойкости по фенотипу у анализируемых генотипов проводили по методике ВНИИ риса (Система рисоводства Российской Федерации, 2022). Образцы семян обеззараживали от вредной микрофлоры, заливая их 12 %-м раствором перекиси водорода на 15 мин. Затем их дважды промывали дистиллированной водой и раскладывали в растильни по 25 шт. на двухслойную увлажненную фильтровальную бумагу в двукратной повторности. Сверху семена прикрывали одним слоем увлажненной фильтровальной бумаги. Растильни сверху накрывали стеклом и помещали в термостат, где выставлялась постоянная температура 14 °C. На пятые сутки проводили первый учет проросших семян и их количество фиксировали в журнале наблюдений. Затем учеты проводили ежедневно и данные также заносили в журнал. На тринадцатые сутки под-

счеты заканчивали, объединяя результаты двух повторностей. Отбирали 20 проростков по методу средних проб, измеряли у них длину coleoptила и рассчитывали его среднюю величину по формуле

$$E = \frac{n_1 s_1 + n_2 s_2 + n_m s_m}{n_1 + n_2 + n_m},$$

где E – средняя скорость прорастания семян (в сутках); n – количество проросших семян за сутки в дни подсчетов, шт.; s – продолжительность прорастания, сутки; m – конечный день подсчетов.

Оценку на холодостойкость устанавливали по двум показателям:

- по скорости прорастания семян;
- по интенсивности роста проростков на 13-е сутки.

Холодостойкость определяли по пятибалльной шкале:

- если экспериментальные образцы превосходили стандарт (Кубань 3) на 10 % – 5 баллов;
- одинаковы со стандартом – 4 балла;
- отставали от стандарта на 20 % – 3 балла;
- отставали от стандарта на 40 % – 2 балла;
- отставали на 60 и более процентов – 1 балл.

Чтобы оценить значимость различий в расщеплении в сегрегирующих популяциях между фактическим числом растений в выборке и теоретически ожидаемым, использовали метод χ^2 (хи-квадрат). Частоту рекомбинации между локусом холодоустойчивости и молекулярными маркерами рассчитывали как отношение

числа растений с наличием или отсутствием ДНК-маркера, несоответствующих фенотипическому проявлению признака устойчивости, к общему числу растений, умноженное на 100 (Нгуен и др., 2018).

Результаты и их обсуждение. Апробация вышеуказанных молекулярных маркеров (табл. 1) показала, что наиболее эффективным является маркерная система RM1377, местоположение которой определено на 3-й хромосоме. С ее использованием получены четкие электрофоретические ДНК-профили каждого анализируемого образца риса и определены их аллельные варианты.

Результаты полученных ДНК-профилей представлены на рисунках 1–3.

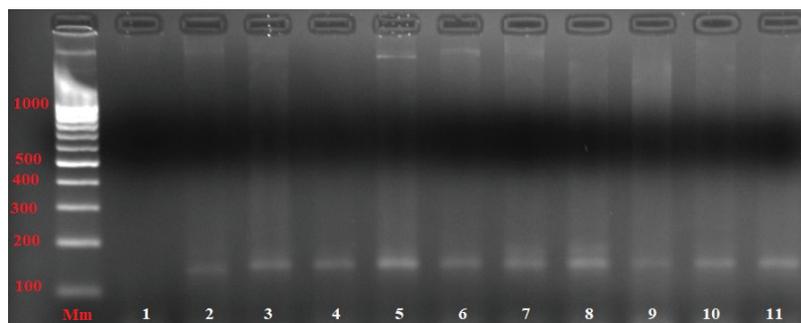


Рис. 1. Детекция продуктов амплификации по SSR-маркеру RM 569.

Примечание. Mm – маркер молекулярной массы 100 bp+1 Kb (производитель – компания Синтол, Россия); 1 – сорт-донор Кубань 3; 2 – сорт-донор Северный; 3 – материнская форма сорт Новатор; 4 – материнская форма сорт Серпантин; 5 – отрицательный контроль сорт Ленарис; 6–11 – гибридные растения F₂ комбинации Новатор/Кубань 3

Fig. 1. Detection of amplification products by SSR-marker RM 569

Note. Mm is a molecular weight marker 100 bp+1 Kb (manufactured by Sintol, Russia); 1 – a donor variety 'Kuban 3'; 2 – a donor variety 'Severny'; 3 – a maternal form, the variety 'Novator'; 4 – a maternal form, the variety 'Serpantin'; 5 – a negative control, the variety 'Lenaris'; 6–11 – hybrid plants of F₂ combination 'Novator/Kuban 3'

Анализируя электрофореграмму рисунок 1, можно видеть, что полиморфизма между экспериментальными образцами в 2%-м агарозном геле выявлено не было. Отсутствует аллельная миграция в ДНК-профилях. Все ам-

пликоны (аллели) находятся на одном уровне. Следовательно, данную маркерную систему нельзя использовать для ранжирования донорных, рецессивных аллелей и гетерозигот.

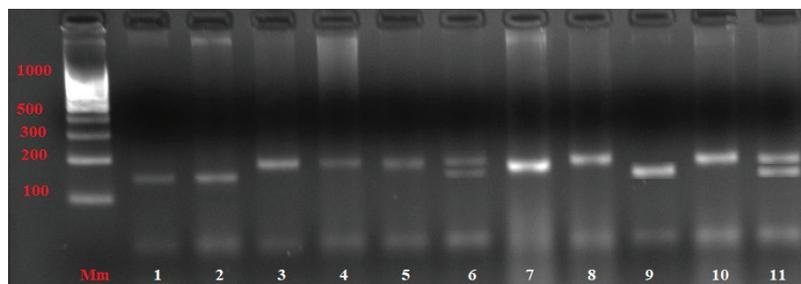


Рис. 2. Детекция продуктов амплификации по SSR-маркеру RM 1377

Примечание. Mm – маркер молекулярной массы 100 bp+1 Kb (производитель – компания Синтол, Россия); 1 – сорт-донор Кубань 3; 2 – сорт-донор Северный; 3 – материнская форма сорт Новатор; 4 – материнская форма сорт Серпантин; 5 – отрицательный контроль сорт Ленарис; 6–11 – гибридные растения F₂ комбинации Новатор/Кубань 3

Fig. 2. Detection of amplification products by SSR-marker RM 1377

Note. Mm is a molecular weight marker 100 bp+1 Kb (manufactured by Sintol, Russia); 1 – a donor variety 'Kuban 3'; 2 – a donor variety 'Severny'; 3 – a maternal form, the variety 'Novator'; 4 – a maternal form, the variety 'Serpantin'; 5 – a negative control, the variety 'Lenaris'; 6–11 – hybrid plants of F₂ combination 'Novator/Kuban 3'

Рисунок 2 демонстрирует результаты ПЦР-диагностирования образцов риса, контрастных по толерантности к низким положительным температурам в период прорастания и всходов. Сорта-доноры под №1 и 2 имеют ПЦР-продукт размером 162 п.н., а неустойчивые сорта – ПЦР-продукт размером 196 п.н. Образцы под № 6–11 являются гибридами сегрегирующей F_2 -популяции комбинации

Новатор/Кубань 3. При оптимально подобранных условиях амплификации (табл. 1) в ДНК-профиле F2 четко различаются все виды генотипов: доминантные (№7 и 9) и рецессивные (№ 8 и 10) гомозиготы, а также гетерозиготы (№ 6 и 11). Данный маркер со специфичными праймерными парами был отобран для селекционной работы для идентификации донорных аллелей и гетерозигот по этому признаку.

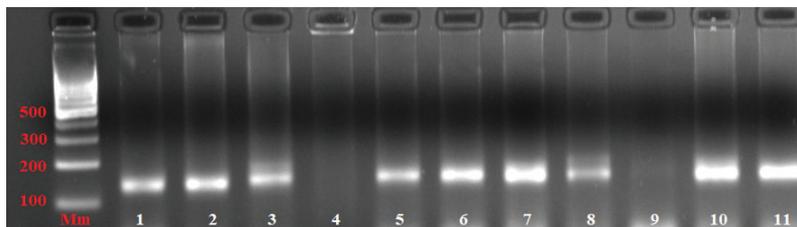


Рис. 3. Детекция продуктов амплификации по SSR-маркеру RM 24545

Примечание. M – маркер молекулярной массы 100 bp+1 Kb (производитель – компания Синтол, Россия); 1 – сорт-донор Кубань 3; 2 – сорт-донор Северный; 3 – материнская форма сорт Новатор; 4 – материнская форма сорт Серпантин; 5 – отрицательный контроль сорт Ленарис; 6–11 – гибридные растения F_2 комбинации Новатор/Кубань 3

Fig. 3. Detection of amplification products by SSR-marker RM 24545

Note. M is a molecular weight marker 100 bp+1 Kb (manufactured by Sintol, Russia); 1 – a donor variety 'Kuban 3'; 2 – a donor variety 'Severny'; 3 – a maternal form, the variety 'Novator'; 4 – a maternal form, the variety 'Serpantin'; 5 – a negative control, the variety 'Lenaris'; 6-11 – hybrid plants of F_2 combination 'Novator/Kuban 3'

На рисунке 3 по SSR-маркеру RM 24545 в 2 %-м агарозном геле ДНК-профиль у всех анализируемых образцов идентичен. Данная маркерная система не использовалась для дальнейшей работы.

Для установления сцепленности маркерной системы RM 1377 с признаком толерант-

ности к низким положительным температурам в период прорастания семян и появления всходов проведена оценка F_2 -популяции комбинации Новатор/Кубань 3 по фенотипу. Затем проведено сравнение результатов ПЦР-анализа с оценкой по фенотипу. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2. Анализ сцепленности SSR-маркера RM 1377 с признаком холодостойкости в период прорастания семян и получения всходов среди растений сегрегирующей популяции F_2
Table 2. Analysis of cohesion of the SSR-marker RM 1377 with a cold resistance trait during seed germination and sprouting among plants of the segregating F_2 population

Маркер	F_2 -растения гибридной комбинации Новатор x Кубань 3								Частота рекомбинации, %
	Сегрегация растений		Маркер / толерантность к низким положительным температурам в период прорастания семян и всходов						
	по генотипу	по фенотипу	R:S		χ^2		R/+ S/+ R/- S/-		
	+ : ± : -	χ^2	R:S	χ^2	R/+	S/+	R/-	S/-	
RM 1377	14:31:17	0,35	47:15	0,02	45	0	2	15	3,2

Примечание. R – устойчивость; S – неустойчивость; «+» – присутствует молекулярный маркер, «-» – отсутствует. Для вероятности ошибки $p \leq 0,05$ и d.f. = 2 критическое значение $\chi^2 = 5,99$, а для d.f. = 1 $\chi^2 = 3,84$.

При анализе данных таблицы 2 видно, что растения F_2 по локусу RM 1377 имеют соотношение по генотипу 14:31:17. Это соответствует менделевскому закону расщепления 1:2:1 и подтверждается статистическим анализом ($\chi^2 = 0,35 < \chi^2(\text{крит.}) = 5,99$). Соотношение по фенотипу 47 (устойчивые): 15 (неустойчивые) также удовлетворяет менделевскому 3:1 и подтверждается статистическим анализом ($\chi^2 = 0,02 < \chi^2(\text{крит.}) = 3,84$). Расчет частоты рекомбинации показал значение 3,2 % (менее 20 %), то есть сила сцепления маркера с признаком составляет 3,2 сМ, что говорит о сце-

пленном наследовании данного маркера с признаком.

Выводы. В результате проведенных исследований из трех апробированных SSR-маркеров на контрастных образцах риса по толерантности к низким положительным температурам в период прорастания и всходов семян отобран маркер – RM 1377. Установлено, что он выявляет полиморфизм и точно идентифицирует аллельное состояние гена (гомо- и гетерозиготы) по данному признаку. Проведенный статистический анализ расщепления по генотипу и фенотипу на растениях

сегрегирующей F_2 -популяции показал сонателюемость данного маркера с признаком холодоустойчивости. Только по этому локусу наблюдается ожидаемая сегрегация растений F_2 по генотипу 1:2:1 и по фенотипу 3:1 согласно закону Менделя. Установлено, что наименьшая частота рекомбинации между донорным аллелем и маркером RM 1377 составила 3,2 %, а сила сцепления – 3,2 сМ. Этот маркер рекомендуется использовать в селекционных про-

граммах по созданию генотипов риса к данному эффекту.

Благодарности. Авторы выражают благодарность заведующему лабораторией физиологии ФНЦ риса М.А. Скаженнику за методическую и консультативную помощь в проведении лабораторного опыта по оценке экспериментальных образцов риса на устойчивость к низким положительным температурам в период прорастания семян и получения всходов.

Библиографический список

1. Дубина Е. В. ДНК-технологии (молекулярное маркирование) в селекции риса и семеноводстве овощных культур: дис. ... д-ра биол. наук. 2019. 275 с.
2. Костылев П. И., Парфенюк А. А., Степовой В. И. Северный рис (генетика, селекция, технология). Ростов н/Д.: ЗАО «Книга», 2004. 576 с.
3. Система рисоводства Российской Федерации / под общ. ред. С. В. Гаркуши. Краснодар: ФГБНУ «ФНЦ риса», Просвещение Юг, 2022. 368 с.
4. Скаженник М. А., Дзюба В. А., Ковалев В. С., Гаркуша С. В., Дубина Е. В., Чухирь И. Н., Савенко Е. Г., Макуха Ю. А., Пшеницына Т. С. Создание и улучшение исходного материала риса, устойчивого к низким положительным температурам // Рисоводство. 2019. № 4(45). С. 38–46.
5. Нгуен М. Л., Монахос Г. Ф., Комахин Р. А., Монахос С. Г. Новый локус устойчивости к киле в хромосоме A05 капусты пекинской (*Brassica rapa* L.) // Генетика. 2018. Т. 54, № 3. С. 306–315.
6. Костылев П. И., Дубина Е. В., Гаркуша С. В. Генетика качественных и количественных признаков риса. Зерноград – Краснодар: АНЦ «Донской», ФНЦ риса, 2025. 336 с.
7. Guo Z., Wang H., Yao J., Cheng Y., Zhang W., Xu Z., ... & Zhao M. Quantitative trait loci mapping analysis for cold tolerance under cold stress and brassinosteroid-combined cold treatment at germination and bud burst stages in rice // *Frontiers in Plant Science*. 2022. Vol. 13, Article number: 938339. DOI: 10.3389/fpls.2022.938339
8. Li C., Liu J., Bian J., Jin T., Zou B., Liu S., ... & Bian J. Identification of cold tolerance QTLs at the bud burst stage in 211 rice landraces by GWAS // *BMC Plant Biology*. 2021. Vol. 21(542), P. 1–11. DOI:10.1186/s12870-021-03317-7
9. Zhang L., Wang F., Liu C., Ma X., Cui D., Han B., Han L. Linkage Mapping and Identification of Candidate Genes for Cold Tolerance in Rice (*Oryza Sativa* L.) at the Bud Bursting Stage // *Rice*. 2025. Vol. 1, P. 1–9. DOI: 10.1186/s12284-024-00754-
10. Saito K., Hayano-Saito Y., Kuroki M., Sato Y. Map-based cloning of the rice cold tolerance gene *Ctb1* // *Plant Science*. 2010. Vol. 179, P. 97–102. DOI: 10.1016/j.plantsci.2010.04.00
11. Wang H., Lee A. R., Park S. Y., Jin S. H., Lee J., Ham T. H., ... & Kwon S. W. Genome-wide association study reveals candidate genes related to low temperature tolerance in rice (*Oryza sativa*) during germination // *Biotech*. Vol. 8(5), P. 235. DOI: 10.1007/s13205-018-1252-9

References

1. Dubina E. B. DNK-tehnologii (molekulyarnoe markirovanie) v selektsii risa i semenovodstve ovoshchnykh kul'tur [DNA technologies (molecular marking) in rice breeding and seed production of vegetable crops]: dis. ... d-ra biol. nauk. 2019. 275 s.
2. Kostylev P. I., Parfenyuk A. A., Stepovoi V. I. Severnyi ris (genetika, selektsiya, tekhnologiya) [Northern rice (genetics, breeding, technology)]. Rostov n/D.: ZAO «Kniga», 2004. 576 s.
3. Sistema risovodstva Rossiiskoi Federatsii [Rice growing system of the Russian Federation] / pod obshch. red. S. V. Garkushi. Krasnodar: FGBNU «FNTs risa», Prosveshchenie Yug, 2022. 368 s.
4. Skazhennik M. A., Dzyuba V. A., Kovalev V. S., Garkusha S. V., Dubina E. V., Chukhir' I. N., Savenko E. G., Makukha Yu. A., Pshenitsyna T. S. Sozdanie i uluchshenie iskhodnogo materiala risa, ustoychivogo k nizkim polozhitel'nym temperaturam [Development and improvement of the initial material of rice resistant to low positive temperatures] // *Risovodstvo*. 2019. № 4(45). S. 38–46.
5. Nguen M. L., Monakhos G. F., Komakhin R. A., Monakhos S. G. Novyi lokus ustoychivosti k kile v khromosome A05 kapusty pekinkoi (*Brassica rapa* L.) [New clubroot resistance locus in chromosome A05 of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.)] // *Genetika*. 2018. T. 54, № 3. S. 306–315.
6. Kostylev P. I., Dubina E. V., Garkusha S. V. Genetika kachestvennykh i kolichestvennykh priznakov risa [Genetics of qualitative and quantitative traits of rice] // *Zernograd – Krasnodar: ANTs «Donskoi», FNTs risa*, 2025. 336 s.
7. Guo Z., Wang H., Yao J., Cheng Y., Zhang W., Xu Z., ... & Zhao M. Quantitative trait loci mapping analysis for cold tolerance under cold stress and brassinosteroid-combined cold treatment at germination and bud burst stages in rice // *Frontiers in Plant Science*. 2022. Vol. 13, Article number: 938339. DOI: 10.3389/fpls.2022.938339
8. Li C., Liu J., Bian J., Jin T., Zou B., Liu S., ... & Bian J. Identification of cold tolerance QTLs at the bud burst stage in 211 rice landraces by GWAS // *BMC Plant Biology*. 2021. Vol. 21(542). P. 1–11. DOI:10.1186/s12870-021-03317-7
9. Zhang L., Wang F., Liu C., Ma X., Cui D., Han B., Han L. Linkage Mapping and Identification of Candidate Genes for Cold Tolerance in Rice (*Oryza Sativa* L.) at the Bud Bursting Stage // *Rice*. 2025. Vol. 1, P. 1–9. DOI: 10.1186/s12284-024-00754-
10. Saito K., Hayano-Saito Y., Kuroki M., Sato Y. Map-based cloning of the rice cold tolerance gene *Ctb1* // *Plant Science*. 2010. Vol. 179, P. 97–102. DOI: 10.1016/j.plantsci.2010.04.00

11. Wang H., Lee A. R., Park S. Y., Jin S. H., Lee J., Ham T. H., ... & Kwon S. W. Genome-wide association study reveals candidate genes related to low temperature tolerance in rice (*Oryza sativa*) during germination // *Biotech*. Vol. 8(5), P. 235. DOI: 10.1007/s13205-018-1252-9

Поступила: 07.11.24; доработана после рецензирования: 23.01.25; принята к публикации: 23.01.25.

Критерии авторства. Авторы статьи подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторский вклад. Дубина Е. В. – сбор данных, анализ данных и их интерпретация, подготовка рукописи; Олимова Зулхуморхон К. Кизи – подготовка и проведение лабораторных опытов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.