

К.В. Азарин, кандидат биологических наук;
А.В. Усатов, доктор биологических наук, профессор;
М.С. Макаренко, аспирант;
В.А. Хачумов, студент,
*Академия биологии и биотехнологии, Южный федеральный университет,
(344090, г. Ростов-на-Дону, просп. Стачки, 194/1, azkir@rambler.ru);*
П.И. Костылев, доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
*ФБГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт
зерновых культур им. И.Г. Калиненко
(347740, г. Зерноград, Научный городок, 3; p-kostylev@mail.ru)*
Е.Б. Кудашкина, аспирант;
*Азово-Черноморский инженерный институт
ФГБОУ ВО Донской ГАУ
(347740, Ростовская область, г. Зерноград, ул. Ленина, 21;
cudashkina.ekaterina@yandex.ru)*

МАРКЕРНАЯ СЕЛЕКЦИЯ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ ФОРМ РИСА

Настоящая работа посвящена исследованию ДНК- маркеров для получения солеустойчивого риса на основе сортов Российской селекции. С целью валидации информационной ценности разрабатываемой маркерной системы и получения новых солеустойчивых форм была проведена гибридизация чувствительного к соли отечественного сорта Новатор с линиями IR 52713-2B-8-2B-1-2, IR 74099-3R-3-3, IR 61920-3B-22-2-1 (NSIC Rc 106) – донорами локуса солеустойчивости *SalTol* QTL. Оценку образцов к солевому стрессу проводили при концентрации NaCl 1,0 %. Растения выращивали в климатической камере при температуре 26°C, влажности 70 %, световом цикле 14/10 ч. Через 14 дней измеряли длину корешков и проростков, рассчитывали процент всхожести семян. В SSR анализе использовали (RM 140, RM 237, RM 8094, RM 8095, RM 3412, RM 7075, RM 8046, AUT 10777, RM 3412 b, RM 10746, RM 10782, RM 493, RM 10776, RM 10793), ассоциированных с локусом солеустойчивости *SalTol*. Показано, что кодоминантные маркеры RM 493 и RM 7075 обладают высокой эффективностью при контроле передачи *SalTol* QTL в отечественные сорта риса. Из растений второго поколения были отобраны 90 образцов, которые проанализировали методом ПЦР на наличие интродуцируемых аллелей *SalTol*. По результатам ДНК-анализа гибридов F₂, полученных на основе высокопродуктивного раннеспелого сорта Новатор и линий-доноров *SalTol*: IR 52713-2B-8-2B-1-2, IR 74099-3R-3-3, IR 61920-3B-22-2-1 (NSIC Rc 106), были идентифицированы 17 солеустойчивых образцов, гомозиготных по искомому локусу, 29 образцов несли *SalTol* в гетерозиготном состоянии, у остальных исследованных растений

показаны только аллели, унаследованные от сорта Новатор.

Ключевые слова: рис, сорт, солеустойчивость, ДНК-маркеры, SSR анализ, локус SalTol.

K.V. Azarin, Candidate of Biological Sciences;

A.V. Usatov, Doctor of Biological Sciences, professor;

M.S. Makarenko, post-graduate student;

V.A. Khachumov, student,

The Academy of Biology and Biotechnology (Southern Federal University)

(344090, Rostov-on-Don, Stachky Av., 194/1; email: azkir@rambler.ru);

P.I. Kostylev, Doctor of Agricultural Sciences, professor,

FSBSI All-Russian Research Institute of Grain Crops after I.G. Kalinenko

(347740, Zernograd, Nauchny Gorodok, 3; p-kostylev@mail.ru);

E.B. Kudashkina, post-graduate student

Azov-Blacksea Engineering Institute affiliated from FSBEI of HE "Donskoy SAU"

(347740, Rostov region, Zernograd, Lenin Str., 21; cudashkina.ekaterina@yandex.ru)

THE MARKER-ASSISTED BREEDING OF SALINITY TOLERANT FORMS OF RICE

The work deals with the study of DNA-markers for obtaining salinity tolerant rice on the basis of varieties of Russian breeding. In order to validate the informational value of the developed marker system and to obtain new salinity tolerant forms there has been carried out a hybridization of salt sensitive domestic variety 'Novator' with the lines 'IR 52713-2B-8-2B-1-2', 'IR 74099-3R-3-3', 'IR 61920-3B-22-2-1 (NSIC Rc 106)' as the donors of the locus of salinity tolerance SalTol QTL. The samples salinity response was assessed with 1.0% of NaCl concentrate. The plants were grown in the climatic chamber with the temperature of 26°C, 70% of humidity and light cycle of 14/10 hours. In 14 days the length of the roots and sprouts and the per cent of seed germination were calculated. The markers 'RM 140', 'RM 237', 'RM 8094', 'RM 8095', 'RM 3412', 'RM 7075', 'RM 8046', 'AUT 10777', 'RM 3412 b', 'RM 10746', 'RM 10782', 'RM 493', 'RM 10776', 'RM 10793' with the locus of salinity tolerance SalTol were used in the SSR-analysis. It has been shown that the co-dominant markers 'RM 493' and 'RM 7075' possess high efficiency during the introduction of the locus SalTol QTL into the domestic varieties of rice. 90 samples have been selected from the plants of the second generation, which were analyzed on the presence of the introduced alleles SalTol with the PCR-method. The DNA-analysis of the hybrids F₂, obtained from the hybridization of the highly productive early-maturing variety 'Novator' and the lines-donors of SalTol 'IR 52713-2B-8-2B-1-2', 'IR 74099-3R-3-3', 'IR 61920-3B-22-2-1 (NSIC Rc 106)' determined that 17 samples were salinity tolerant in homozygous state, 29 samples had the allele SalTol in heterozygous state and the rest of the studied plants had only the alleles inherited from the variety 'Novator'.

Keywords: rice, variety, salinity tolerance, DNA-markers, SSR-analysis, locus *SalTol*.

Введение. Засоление почвы значительно ограничивает продуктивный потенциал выращиваемого на ней риса. В связи с этим получение сортов с высокой устойчивостью к солевому стрессу является одной из актуальных задач селекции этой культуры. ДНК-маркирование локусов, ассоциированных с солеустойчивостью, и дальнейшая интродукция этих QTL (Quantitative Trait Loci или локусов количественных признаков) в урожайные сорта считают наиболее перспективным подходом, позволяющим значительно сократить время селекционного процесса [1, 2, 3]. Известно, что устойчивость риса к солевому стрессу обусловлена многими генами [4, 5, 6]. На сегодня маркировано более чем 70 локусов (QTLs), однако самым известным и, по-видимому, наиболее надежным локусом солеустойчивости остается *SalTol/SKCI* [7, 8, 9, 10]. Данный локус картирован на 1-ой хромосоме, а основная его функция заключается в контроле баланса ионов Na^+/K^+ в растениях риса [11].

Целью работы являлось исследование информативности SSR маркеров, связанных с геном солеустойчивости *SalTol*, для интрогрессии данного локуса в сорта риса отечественной селекции.

Материалы и методы. Исследование ДНК-маркеров устойчивости к засолению проводили на образцах риса из коллекции ВНИИ зерновых культур им. И.Г. Калининко. В качестве реципиента при интрогрессии локусов солеустойчивости использовали продуктивный раннеспелый сорт Новатор селекции ВНИИ риса. Позднеспелые азиатские линии IR 52713-2B-8-2B-1-2, IR 74099-3R-3-3, IR 61920-3B-22-2-1 (NSIC Rc 106) использовали в качестве доноров локуса солеустойчивости.

Геномную ДНК выделяли из молодых листьев риса по методу Р. Бума [12] с нашими модификациями [13]. Для SSR анализа использовали следующие 14 микросателлитных маркеров, ассоциированных с локусами солеустойчивости: RM 140, RM 237, RM 8094, RM 8095, RM 3412, RM 7075, RM 8046, AUT 10777, RM 3412b, RM 10746, RM 10782, RM 493, RM 10776, RM 10793 (<http://www.gramene.org/markers/>). Амплификацию проводили в термоциклере PalmCyclerCorbettResearch (Австралия). Термальный режим реакций подбирали для каждой пары праймеров с учетом их нуклеотидного состава. Для большинства проведенных реакций оптимальным оказался температурный режим с начальной денатурацией при 96°C в течение 2 минут, затем 30 циклов при соблюдении температурно-временного режима: отжиг при 55-60°C в течение 40 секунд, элонгация – 1 минуту при 70°C, денатурация при 94°C – 30 секунд, финальная элонгация – 2 минуты. Продукты реакции амплификации разделяли электрофоретически в

2% агарозном геле с бромистым этидием (1 мкг/мл), используя трис-боратный буфер. После электрофореза гели переносили на трансиллюминатор и фотодокументировали с помощью видеосистемы (GelDoc 2000, BioRad, США).

Оценку образцов к солевому стрессу проводили следующим образом. Семена риса замачивали в воде в течение 12 часов, затем помещали в специальные лотки и добавляли солевой раствор в концентрации 1,0% NaCl. Контрольные семена проращивали на дистиллированной воде. Растения выращивали в климатической камере (Binder, Германия) при температуре 26°C, влажности 70%, световом цикле 14/10 часов. Через 14 дней измеряли длину корешков и ростков, рассчитывали процент всхожести семян.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Excel пакета Microsoft Office.

Результаты. В результате SSR-анализа образцов риса по 14 микросателлитным маркерам было показано, что только RM 493 и RM 7075 дают специфические хорошо воспроизводимые спектры и являются информативными при идентификации локуса солеустойчивости *SalTol* (рис. 1).

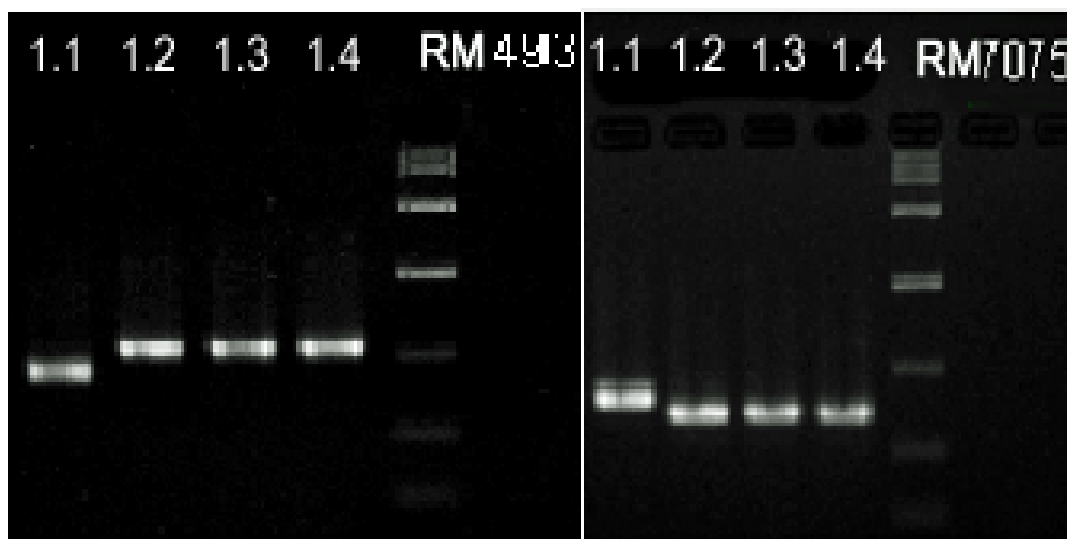


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК с RM 493 и RM7075: 1.1 - Новатор; 1.2 – NSIC Rc 106; 1.3 - IR 52713-2B-8-2B-1-2; 1.4 - IR 74099-3R-3-3; ДНК-маркер (100-1500 п.о.).

С целью валидации (проверки) информативности маркерной системы и получения новых солеустойчивых форм риса на основе сортов Российской селекции была проведена гибридизация чувствительного к соли отечественного сорта Новатор с линиями IR52713-2B-8-2B-1-2, IR74099-3R-3-3, IR61920-3B-22-2-1 (NSIC Rc 106) – донорами локуса *SalTol*. Первое поколения гибридов было использовано для получения F₂ гибридной популяции. Из популяций растений второго поколения были отобраны 90 скороспелых образцов (по

30 в каждой комбинации скрещивания), которые проанализировали методом ПЦР на наличие интродуцируемых аллелей *SalTol*. В качестве примера на рисунке 2 приведены данные электрофоретического анализа ПЦР-продуктов с маркером RM 493. Донорская аллель родительской линии NSIC Rc 106, обозначенная как 2.2, выявлена в гомозиготном состоянии у образца под номером 282. Остальные растения, чьи спектры амплификации представлены на данной электрофореграмме, несли аллели донора и сорта Новатор, то есть были гетерозиготны по локусу *SalTol* (рис. 2). Сходные результаты получены при проведении ДНК-анализа исследуемых образцов риса с маркером RM 7075 (рис. 3).

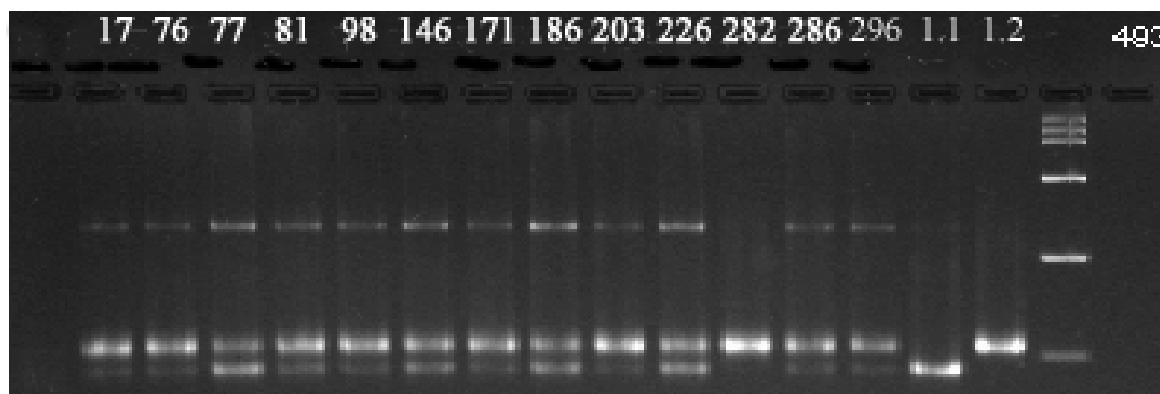


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК с RM 493: 1.1 - Новатор; 2.2 – NSIC Rc 106; 37-50 – гибридные растения NSIC Rc 106 × Новатор; ДНК-маркер (100-1500 п.о.).

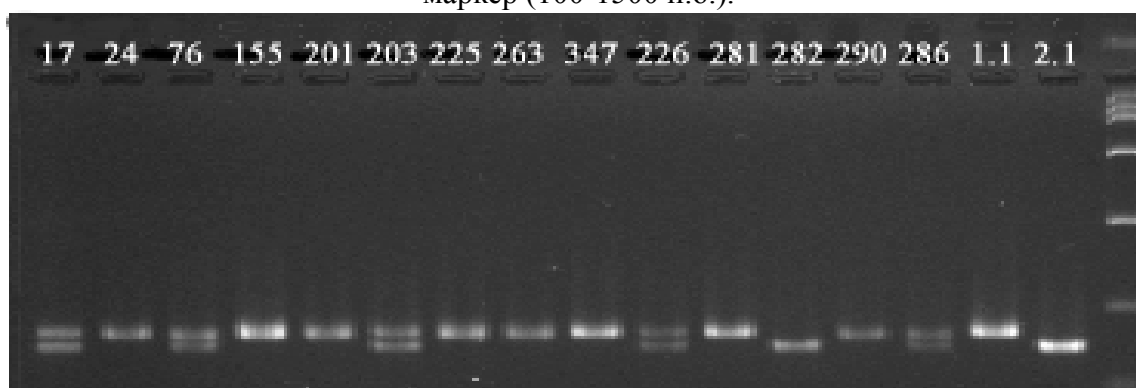


Рис. 3. Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК с RM 7075: 1.1 - Новатор; 2.2 – NSIC Rc 106; 37-50 – гибридные растения NSIC Rc 106 × Новатор; ДНК-маркер (100-1500 п.о.).

В целом по результатам ДНК-анализа гибридов F_2 выявлены 17 растений, гомозиготных по локусу *SalTol*, 29 образцов несли *SalTol* в гетерозиготном состоянии, у остальных исследованных растений показаны только аллели, унаследованные от сорта Новатор.

С точки зрения валидации разрабатываемой маркерной системы большое значение имеет согласованность данных молекулярного генотипирования образцов риса и их морфо-физиологического ответа на стрессовое воздействие. Тестирование растений на

устойчивость к засолению на ранних стадиях развития является быстрым, общепринятым методом и основывается на простых критериях. Так было показано, что на начальной стадии вегетации длина корня, побега и всхожесть семян являются потенциальными индикаторами устойчивости к воздействию повышенных концентраций соли [14, 15]. Оценка потенциальной солеустойчивости исследуемых гибридов риса и их родительских форм выявила значительные вариации устойчивости к засолению в зависимости от генотипа (см. таблицу). Наибольшее снижение всхожести семян (52%) выявлено у чувствительного к соли сорта Новатор. Линия NSIC Rc 106 и растения второго поколения, которые были гомо- и гетерозиготными по локусу *SalTol*, показали наибольшую устойчивость по признаку прорастания семян (снижение всхожести менее 5%). Также высокую устойчивость по данному признаку показали линии доноры IR 52713-2B-8-2B-1-2, IR 74099-3R-3-3 и гибридные комбинации, полученные на их основе с геном *SalTol* в гомозиготном состоянии.

1. Всхожесть, длина ростков и корешков образцов риса через 14 дней прорастания в условиях засоления (1% NaCl)

Образцы	Всхожесть, %		Длина ростка, см		Длина корня, см	
	Контроль	1 % NaCl	Контроль	1 % NaCl	Контроль	1 % NaCl
Новатор	99±1,0	52±2,5*	11,4±1,3	3,4±0,5*	9,3±1,0	2,2±0,7*
NSIC Rc 106	87±1,5	85±1,0	13,6±1,6	7,2±1,1	11,5±1,7	7,7±1,0
IR 52713	80±2,5	77±1,7	10,5 ±1,2	6,7±1,5	10,9±1,9	5,8±2,1
IR 74099	85±1,8	85±1,2	12,0 ±1,0	6,5±1,8	10,0±1,5	5,1±1,7
NSIC Rc 106 × Новатор						
Гомозиготы (по <i>SalTol</i>)	90±3,0	85±2,0	14,9±1,5	8,1±1,2	9,5±0,5	6,3±1,2
Гетерозиготы	85±1,0	87±1,5	13,2±2,3	6,2±1,8	10,8±1,5	5,1±1,9
Гомозиготы (без <i>SalTol</i>)	94±1,5	61±2,0*	12,2±1,2	4,6±0,6*	9,7±1,4	1,7±0,9*
IR 52713 × Новатор						
Гомозиготы (по <i>SalTol</i>)	85±2,0	85±1,0	10,3±1,5	8,0±1,8	11,5±1,7	5,1±1,5
Гетерозиготы	95±1,5	90±2,5	11,0±1,7	7,5±2,6	11,0±1,5	6,5±1,8
Гомозиготы (без <i>SalTol</i>)	95±1,5	54±3,0*	10,7±1,5	4,1±1,0*	10,2±1,2	2,5±0,5*
IR 74099 × Новатор						
Гомозиготы (по <i>SalTol</i>)	90±2,0	87±2,5	14,0±1,5	7,5±0,9	10,1±0,8	6,7±1,8
Гетерозиготы	87±3,0	88±1,7	12,5±2,9	6,0±1,5	10,8±1,5	7,0±1,5
Гомозиготы (без <i>SalTol</i>)	95±2,5	57±2,7*	12,0±1,5	3,8±0,5*	9,7±1,4	2,1±0,5*

Примечание: * достоверные отличия по сравнению с контролем при $p < 0,05$

Наименьшее подавление показателей роста, так же как и в случае всхожести семян, было зафиксировано у линий NSIC Rc 106, IR 52713-2B-8-2B-1-2, IR 74099-3R-3-3 и гомозиготных по *SalTol* растений из поколения F₂, в то время, как наибольшее снижение длины ростков и корней под действием солевого стресса показано у сорта Новатор и у гибридных растений, которые не унаследовали *SalTol* locus согласно данным молекулярного анализа (см. таблицу). Таким образом, ДНК-анализ позволил упростить селекционную схему и получить солеустойчивые гибриды F₂, несущие *SalTol* locus в гомозиготном состоянии. Данные результаты свидетельствуют, что разработанные кодоминантные маркеры RM 493 и RM 7075 локуса *SalTol*, являются эффективным инструментом для маркер-опосредованной селекции солеустойчивых форм на основе отечественных генотипов риса.

Выводы

1. Исследование информационной ценности SSR- маркеров, ассоциированных с локусом солеустойчивости *SalTol*, продемонстрировало, что кодоминантные маркеры RM 493 и RM 7075 являются эффективным инструментом для контроля передачи *SalTol* QTL в сорта риса отечественной селекции.

2. ДНК-анализ гибридных комбинаций риса F₂, полученных на основе отечественного сорта Новатор и азиатских линий-доноров *SalTol*, позволил идентифицировать 17 солеустойчивых образцов, гомозиготных по искомому локусу.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 40.91.2014/К.

Литература

1. Ashraf, M. Marker-assisted selection in plant breeding for salinity tolerance / Ashraf, M., N.A. Akram, Mehboob-Ur-Rahman and M.R. Foolad // *Methods Mol Bio.*, 2012. – 913. – P. 305-33.

2. Das, P. Understanding salinity responses and adopting “omics-based” approaches to generate salinity tolerant cultivars of rice / Das, P., K.K. Nutan, S.L. Singla-Pareek and A. Pareek // *Frontiers in Plant Science*, 2015. – 6. – P. 712.

3. Усатов А.В. ДНК-маркеры устойчивости к ложной мучнистой росе (*Plasmopara halstedii*) у дикорастущих форм подсолнечника / Усатов А.В., Азарин К.В., Тихобаева В.Е., Воличенко М.И., Гаврилова В.А., Маркин Н.В // *Современные проблемы науки и образования*, 2013. – № 4. – С. 1-6.

4. Negrão, S. Recent updates on salinity stress in rice: from physiological to molecular responses / Negrão, S., Courtois B, Ahmadi N, Abreu I, Saibo N, Oliveira MM // *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2011. – V. 30. – P. 329-377.
5. Mekawy, A.M. Growth, physiological adaptation, and gene expression analysis of two Egyptian rice cultivars under salt stress / Mekawy, A.M., D.V. Assaha, H. Yahagi, Y. Tada, A. Ueda and H. Saneoka // *Plant Physiology and Biochemistry*, 2011. – 1 87. – P. 17-25.
6. Azarin, K. V. Effects of Salt Stress on Ion Balance at Vegetative Stage in Rice (*Oryza sativa* L.) / K. V. Azarin, A. V. Alabushev, A. V. Usatov, P. I. Kostylev, N.S. Kolokolova and O. A. Usatova // *OnLine Journal of Biological Sciences*, 2016. – V. 16 (1). – P. 76-81.
7. Bonilla, P. RFLP and SSLP mapping of salinity tolerance genes in chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using recombinant inbred lines / Bonilla, P., Dvorak J., Mackill D., Deal K., Gregorio G // *The Philippine Agricultural Scientist*, 2002. – V. 85. – P. 68-76.
8. Lin, H.X. QTLs for Na⁺ and K⁺ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance / Lin, H.X., Zhu M.Z., Yano M., Gao J.P., Liang Z.W., Su W.A., Hu X.H., Ren Z.H., Chao D.Y. // *Theor Appl Genet.*, 2004. – V. 108(2). – P. 253-260.
9. Cotsaftis, O. A Two-Staged Model of Na⁺ Exclusion in Rice Explained by 3D Modeling of HKT Transporters and Alternative Splicing / Cotsaftis, O., D. Plett, N. Shirley, M. Tester and M. Hrmova // *PLoS ONE*, 2012. – 7(7): e39865.
10. Kumar, V.A. Genome-wide association mapping of salinity tolerance in rice (*Oryza sativa*) / Kumar, V., A., Singh, S.V.A. Mithra, S. L. Krishnamurthy, S. K. Parida, S. Jain, K. K. Tiwari, P. Kumar, A. R. Rao, S. K. Sharma, J. P. Khurana, N. K. Singh, and T. Mohapatra // *DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes*, 2015. – 22(2). – P. 133-145.
11. Platten, J.D. Salinity tolerance, Na⁺ exclusion and allele mining of HKT1;5 in *Oryza sativa* and *O. glaberrima*: many sources, many genes, one mechanism? / J.D. Platten, J.A. Egdane, A.M. Ismail // *BMC Plant Biol.*, 2013. – V. 13. – P 2-16.
12. Boom, R. Rapid and simple method for purification of nucleic acids / R. Boom, C.J.A. Sol, M.M.M. Salimans, C.L. Jansen, P.M.E. Wertheim-Van Dillen, J. Van Der Noordaa // *J. Clin. Microb.*, 1990. – V. 28. – № 3. – P. 495-503.
13. Маркин, Н.В. Анализ полиморфизма хлоропластной ДНК культурного и дикорастущего подсолнечника *Helianthus petiolaris* / Н.В Маркин, К.В. Азарин, В.С. Лотник, О.Ф. Горбаченко., В.А. Гаврилова, А.В. Усатов // *Масличные культуры: Науч.-техн. бюл. ВНИИМК*, 2011. – №2 (148-149). – С. 105-108.

14. Mardani1, Z. Identification of molecular markers linked to salt-tolerant genes at germination stage of rice / Z. Mardani1, B. Rabiei, H. Sabouri, A. Sabouri // *Plant Breeding*, 2014. – V. 133. – P. 196-202.

15. Ali, Md.N. Screening of rice landraces for salinity tolerance at seedling stage through morphological and molecular markers / Md.N. Ali, L. Yeasmin, S. Gantait, R. Goswami, S. Chakraborty // *Physiol Mol Biol Plants.*, 2014. – V. 20. – P. 411-423.

Literature

1. Ashraf, M. Marker-assisted selection in plant breeding for salinity tolerance / Ashraf, M., N.A. Akram, Mehboob-Ur-Rahman and M.R. Foolad // *Methods Mol Bio.*, 2012. – 913. – P. 305-33.
2. Das, P. Understanding salinity responses and adopting “omics-based” approaches to generate salinity tolerant cultivars of rice / Das, P., K.K. Nutan, S.L. Singla-Pareek and A. Pareek // *Frontiers in Plant Science*, 2015. – 6. – P. 712.
3. Usatov, A.V. DNA-markers of tolerance to false powdery mildew (*Plasmopara halstedii*) of wild forms of sunflower / A.V. Usatov, K.V. Azarin, V.E. Tikhobaeva, M.I. Volichenko, V.A. Gavrilova, N.V. Markin // *Modern problems of science and education*. – 2013. – № 4. – PP. 1-6.
4. Negrão, S. Recent updates on salinity stress in rice: from physiological to molecular responses / Negrão, S., Courtois B, Ahmadi N, Abreu I, Saibo N, Oliveira MM // *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2011. – V. 30. – P. 329-377.
5. Mekawy, A.M. Growth, physiological adaptation, and gene expression analysis of two Egyptian rice cultivars under salt stress / Mekawy, A.M., D.V. Assaha, H. Yahagi, Y. Tada, A. Ueda and H. Saneoka // *Plant Physiology and Biochemistry*, 2011. – 1 87. – P. 17-25.
6. Azarin, K. V. Effects of Salt Stress on Ion Balance at Vegetative Stage in Rice (*Oryza sativa* L.) / K. V. Azarin, A. V. Alabushev, A. V. Usatov, P. I. Kostylev, N.S. Kolokolova and O. A. Usatova // *OnLine Journal of Biological Sciences*, 2016. – V. 16 (1). – P. 76-81.
7. Bonilla, P. RFLP and SSLP mapping of salinity tolerance genes in chromosome 1 of rice (*Oryza sativa* L.) using recombinant inbred lines / Bonilla, P., Dvorak J., Mackill D., Deal K., Gregorio G // *The Philippine Agricultural Scientist*, 2002. – V. 85. – P. 68-76.
8. Lin, H.X. QTLs for Na⁺ and K⁺ uptake of the shoots and roots controlling rice salt tolerance / Lin, H.X., Zhu M.Z., Yano M., Gao J.P., Liang Z.W., Su W.A., Hu X.H., Ren Z.H., Chao D.Y. // *Theor Appl Genet.*, 2004. – V. 108(2). – P. 253-260.
9. Cotsaftis, O. A Two-Staged Model of Na⁺ Exclusion in Rice Explained by 3D Modeling of HKT Transporters and Alternative Splicing / Cotsaftis, O., D. Plett, N. Shirley, M. Tester and M. Hrmova // *PLoS ONE*, 2012. – 7(7): e39865.
10. Kumar, V.A. Genome-wide association mapping of salinity tolerance in rice (*Oryza sativa*) / Kumar, V., A., Singh, S.V.A. Mithra, S. L. Krishnamurthy, S. K. Parida, S. Jain, K. K. Tiwari, P. Kumar, A. R. Rao, S. K. Sharma, J. P. Khurana, N. K. Singh, and T. Mohapatra // *DNA Research: An International Journal for Rapid Publication of Reports on Genes and Genomes*, 2015. – 22(2). – P. 133-145.
11. Platten, J.D. Salinity tolerance, Na⁺ exclusion and allele mining of HKT1;5 in *Oryza*

sativa and *O. glaberrima*: many sources, many genes, one mechanism? / J.D. Platten, J.A. Egdane, A.M. Ismail // *BMC Plant Biol.*, 2013. – V. 13. – P 2-16.

12. Boom, R. Rapid and simple method for purification of nucleic acids / R. Boom, C.J.A. Sol, M.M.M. Salimans, C.L. Jansen, P.M.E. Wertheim-Van Dillen, J. Van Der Noordaa // *J. Clin. Microb.*, 1990. – V. 28. – № 3. – P. 495-503.

13. Markin, N.V. Analysis of polymorphism of chloroplast DNA of wild and field sunflower *Helianthus petiolaris* / N.V. Markin, K.V. Azarin, V.S. Lotnik, O.F. Gorbachenko, V.A. Gavrilova, A.V. Usatov // *Oil crops: Sc.-Tech.Bul. ARRIMK.*– 2011. – №2 (148-149). – PP. 105-108.

14. Mardani1, Z. Identification of molecular markers linked to salt-tolerant genes at germination stage of rice / Z. Mardani1, B. Rabiei, H. Sabouri, A. Sabouri // *Plant Breeding*, 2014. – V. 133. – P. 196-202.

15. Ali, Md.N. Screening of rice landraces for salinity tolerance at seedling stage through morphological and molecular markers / Md.N. Ali, L. Yeasmin, S. Gantait, R. Goswami, S. Chakraborty // *Physiol Mol Biol Plants.*, 2014. – V. 20. – P. 411-423.