

## Анализ и отбор генотипов

УДК 633.18:631.522/.524:575

doi: 10.15389/agrobology.2017.1.152rus

### ПРИМЕНЕНИЕ МНОГОМЕРНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ РАЗДЕЛЕНИЯ СОРТОВ РИСА ПО РЕАКЦИИ НА ИЗМЕНЕНИЕ УСЛОВИЙ СРЕДЫ\*

Е.М. ХАРИТОНОВ, Ю.К. ГОНЧАРОВА, Н.А. ОЧКАС, В.А. ШЕЛЕГ,  
С.В. БОЛЯНОВА

Большую часть посевных площадей под рисом в настоящее время занимает ограниченное число сортов. Для расширения их генетического разнообразия необходимо повысить эффективность оценки и отбора уникальных генотипов, определения экологической адресности каждого сорта. Кроме того, сложившаяся система не предусматривает детального изучения образцов, передаваемых на конкурсное сортоиспытание. Изучение продуктивности созданных сортов проводится на одном фоне минерального питания, что приводит к браковке высокопродуктивных образцов, для которых он не оптимален. В настоящей работе на основе синтеза ранее предложенных методов мы разработали систему оценки селекционного материала, включающую контрастные сроки посева, различные фоны минерального питания, стрессовые фоны. В многофакторном лизиметрическом опыте с 19 вариантами исследовали продуктивность 24 сортов риса (*Oryza sativa* L.) российской селекции. Растения выращивали на оптимальном ( $N_{120}P_{60}K_{60}$ ) и повышенном ( $N_{240}P_{120}K_{120}$ ) фонах минерального питания; при разреженном (200 растений на  $1\text{ м}^2$ ) и загущенном (300 растений на  $1\text{ м}^2$ ) посевах; контрастных сроках сева (15 апреля, 15 мая, 15 июня); засолении (создавалось искусственно в фазу кущения посредством внесения в почву NaCl до концентрации 0,35 %), недостатке поливной воды (полив прекращали в фазу выметывания). Обработку данных проводили с использованием кластерного и дискриминантного анализов. Применение многомерных методов для обработки результатов повысило информативность данных. Сорта были кластеризованы на группы с наиболее близкими характеристиками при воздействии различных факторов; выделены условия среды, которые позволяют максимально точно дифференцировать образцы с минимальными затратами на проведение эксперимента. Установлено, что стандартные условия выращивания в меньшей степени дифференцируют образцы. Корректно сравнить образцы позволяют условия среды, благоприятные для реализации потенциала продуктивности. Создание стресса на фоне других благоприятных факторов расширяет варьирование признаков и увеличивает дисперсию в опыте, что делает разделение сортов на группы более достоверным. В рамках модуля дискриминантного анализа «пошаговый анализ назад» решается задача максимального сокращения числа вариантов опыта (или изучаемых признаков) при сохранении точности выделения характерных представителей кластера. Установлено, что даже два выделенных варианта опыта (высокий фон минерального питания и недостаток влаги) обеспечивают верную классификацию 88 % образцов, что приемлемо для генетических исследований, где необходимо отобрать наиболее характерных представителей группы. В наших экспериментах при сокращении числа вариантов до двух образцы первой и третьей групп из четырех, выделившихся по разной реакции на изучаемые факторы окружающей среды, были классифицированы правильно, и только три сорта из второй группы попали в другой кластер. Дискриминантный анализ также показывает расстояние каждого сорта от центроида группы. Образцы с минимальным расстоянием от него — наиболее характерные представители группы, которые могут использоваться как источники генов по изучаемому признаку, контрастные формы при подборе пар для гибридизации или молекулярном маркировании и локализации генов количественных признаков (QTL). У риса максимальный вклад в разделение групп сортов по реакции на условия среды вносили варианты с ранним посевом, загущением, повышенным фоном минерального питания, недостатком влаги. Модель идеального сорта кластеризовалась с сортом Курчанка. Сорта первой группы были близки к модельному сорту по реакции на условия среды. Несмотря на высокую продуктивность представителей третьего класса (сорт Курчанка и модельный сорт), дисперсия в этой группе более чем в 3 раза превышала таковую в других. Следовательно, представители этой группы характеризовались меньшей стабильностью, чем образцы первого и второго кластеров.

Ключевые слова: рис, *Oryza sativa*, многомерные методы, оценка селекционного материала, кластерный анализ, дискриминантный анализ.

В настоящее время значительную часть посевных площадей под рисом занимает ограниченное число сортов. Для их большего генетического разнообразия необходимо повысить эффективность оценки и отбора уникальных генотипов и экологической адресности каждого сорта (1-3).

\* Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 16-04-230207).

Кроме того, недостаточно полная оценка исходного материала снижает эффективность селекционного процесса. Сложившаяся система не предусматривает детального исследования образцов, передаваемых на конкурсное сортоиспытание (4-5). Продуктивность созданных сортов изучают на одном фоне минерального питания, что приводит к браковке высокопродуктивных форм, для которых этот фон не оптимален. Такой подход не позволяет выявить потенциальную урожайность образца, норму реакции сорта на стрессовые воздействия и доноров высокой функциональной активности генетических систем, определяющих продуктивность и адаптивность (6-7), отсутствует возможность оценить стабильность созданного материала (8-10). В результате ценнейший материал, на создание которого ушли годы работы селекционеров, не находит применения.

Потенциал продуктивности риса, как и многих других культур, со второй половины XX века растет очень медленно. Дальнейшее увеличение производства риса может быть достигнуто за счет интенсификации или продвижения его в регионы с более низкими либо высокими температурами, в зоны с засоленными или затопляемыми почвами (11-13). К середине XXI века изменение климата вызовет повышение средних температур. Кроме того, чаще будут отмечаться кратковременные температурные колебания, не характерные для регионов (изменения климата в зоне тропиков уже вызвало снижение урожаев риса). Повышение температуры на 1 °C приводит к снижению урожая более чем на 10 % (14, 15). Вследствие подъема уровня моря прогнозируется расширение территорий с засолением почвы (16-18). Следовательно, для увеличения производства культуры требуется не только повысить потенциальную продуктивность, но и обеспечить стабильность урожая и комплексную устойчивость к стрессам (19, 20). При действии абиотических стрессоров сильнее страдают сорта с высокой потенциальной продуктивностью. Именно по этой причине во многих странах растениеводство ориентируют не на максимальную, а на оптимальную и устойчивую урожайность (21-23).

Оценку стабильности материала обычно проводят при его выращивании в различных экологических условиях или с использованием контрастных агротехнических приемов (24-26). Однако в опытах практически не применяются стрессовые фоны (засоление, высокие или низкие температуры) (27-28) и редко изучаются контрастные сроки сева (29-31). Это в значительной мере обедняет получаемую информацию.

Математическую обработку данных, как правило, выполняют с помощью дисперсионного или регрессионного анализа (32-34). Только в последнее время для статистической оценки результатов стали применять многомерные методы (35-37). Их внедрение в практику изучения селекционного материала и перспективных сортов позволит эффективнее выявлять образцы, пригодные для широкого ареала возделывания (38-40). Многомерные методы анализа дают возможность объединить образцы в группы с наиболее близкими ответными реакциями на воздействие различных факторов, определить условия среды, которые позволят максимально точно дифференцировать образцы и потребуют минимальных затрат на проведение эксперимента (41-43), исключить малоинформативные варианты и выявить минимальное число вариантов, позволяющих со 100 % достоверностью отнести образец в соответствующую группу адаптивности (44-46).

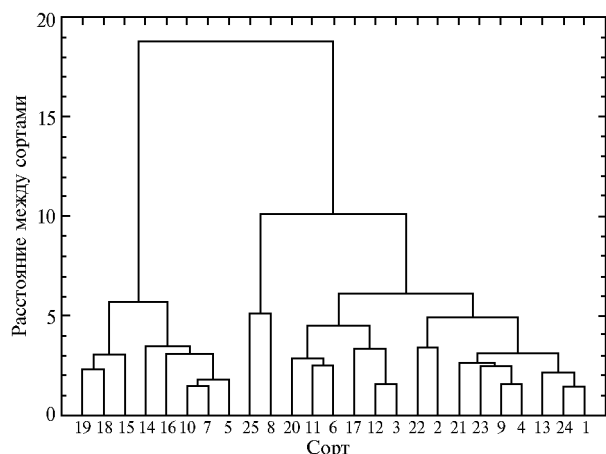
В настоящей работе на основе синтеза ранее предложенных методов мы разработали систему оценки селекционного материала, включающую контрастные сроки посева, различные фоны минерального питания, стрессовые фоны. Применение методов многомерной статистики для обработки результатов многократно увеличило информативность данных.

Целью исследования было разделение российских сортов риса на группы по реакции на комплекс факторов среды и определение условий, которые позволяют выполнить такое разделение максимально эффективно.

**Методика.** В многофакторном опыте (заложен на вегетационной площадке Всероссийского НИИ риса в 2004–2006 годах) исследовали 24 сорта риса (*Oryza sativa* L.) отечественной селекции. Растения выращивали в лизиметрических опытах на оптимальном ( $N_{120}P_{60}K_{60}$ ) и повышенном ( $N_{240}P_{120}K_{120}$ ) фонах минерального питания; при разреженном (200 растений на  $1\text{ м}^2$ ) и загущенном (300 растений на  $1\text{ м}^2$ ) посеве; разных сроках сева (15 апреля, 15 мая, 15 июня); засолении (создавалось искусственно в фазу кушения посредством внесения в почву NaCl до содержания 0,35 %); недостатке влаги (полив прекращали в фазу выметывания). Выборка составляла 30 растений сорта на вариант опыта. Посев выполняли однорядковыми деланками, по 10 растений в ряду, расстояние между рядками 10 см. Повторность опытов 3-кратная, размещение деланок рендомизированное.

Оценивали продуктивность (массу зерна с растения) у всех растений в опыте. Контролем во всех вариантах было выращивание растений на оптимальном фоне минерального питания ( $N_{120}P_{60}K_{60}$ ) при разреженном (200 растений на  $1\text{ м}^2$ ) посеве 15 мая. Во всех случаях, кроме загущенного посева, норма высева составляла 200 растений на  $1\text{ м}^2$ .

Данные обрабатывали с помощью кластерного и дискриминантного анализа в программе Statistica 6.0 («StatSoft, Inc.», США) (36, 37, 39).



**Рис. 1.** Кластеризация сортов риса (*Oryza sativa* L.) российской селекции по реакции на факторы среды на основании оценки продуктивности (метод Warda): 1 — Аметист, 2 — Боярин, 3 — Дальневосточный, 4 — Дружный, 5 — Жемчуг, 6 — Изумруд, 7 — Касун, 8 — Курчанка, 9 — Лидер, 10 — Лиман, 11 — Павловский, 12 — Приморский, 13 — Рапан, 14 — Садко, 15 — Серпантин, 16 — Снежинка, 17 — Спринт, 18 — Стрелец, 19 — Факел, 20 — Фонтан, 21 — Хазар, 22 — Юпитер, 23 — Янтарь, 24 — среднее по группе, 25 — модельный (идеальный) сорт.

**Результаты.** Закладка опыта позволила провести анализ организации генетических систем, определяющих аттракцию продуктов фотосинтеза из стебля и листьев в метелку, их микрораспределение между зерном и мякиной, эффективность почвенного питания, толерантность к загущению, засолению, недостатку влаги, вариабельность длин периодов онтогенеза (1, 2). С помощью кластерного анализа данных по продуктивности сортов во всех вариантах опыта они были разделены на 4 группы с разной реакцией на изучаемые факторы среды (рис. 1).

На следующем этапе с использованием дискриминантного анализа требо-

валось оценить достоверность межгрупповых различий по реакции на комплекс условий выращивания. Дискриминантный анализ основан на построении линейных комбинаций признаков—функция, в которые каждый признак или вариант опыта входит со своим коэффициентом (вкладом). С использованием программы Statistica 6.0 для разделения групп мы построили три дискриминантные функции. Первые две учли более 97 % исходной дисперсии вариантов опыта. Следовательно, в решении последующих

задач значениями оставшейся можно было пренебречь, поскольку она учитывала менее 3 % дисперсии.

Оценка достоверности дискриминации групп сортов, выполненная с использованием критерия  $\chi$ -квадрат, показала, что для их разделения эффективна только первая дискриминантная функция. Вероятность отсутствия межгрупповых различий с ее использованием была меньше допустимого в биологических исследованиях уровня значимости ( $p < 0,05$ ). Однако даже с использованием первой дискриминантной функции не во всех вариантах опыта удалось равноценно разделить сорта на группы по стабильности продуктивности в различных условиях среды.

С помощью дискриминантного анализа также оценили варианты опыта по возможности их использования для выявления межсортных различий (табл. 1).

### 1. Стандартизованные коэффициенты дискриминантных функций при оценке различий между изученными сортами риса (*Oryza sativa* L.) по реакции на факторы внешней среды

Условия среды (вариант опыта)	Первая дискриминантная функция	Вторая дискриминантная функция
Ранний посев, 2004 год	0,12	-0,48
Загущение, 2004 год	0,57	-1,21
Поздний посев, 2004 год	0,55	0,81
Оптимальный срок посева, 2004 год	0,54	-1,56
Засоление, 2004 год	-0,27	3,82
Высокий фон минерального питания, 2004 год	-0,38	-1,12
Ранний посев, 2005 год	0,06	0,09
Засоление, 2005 год	0,88	-0,07
Поздний посев, 2005 год	0,54	-0,18
Загущение, 2005 год <sup>a</sup>	-2,63	-1,24
Недостаток влаги, 2005 год <sup>a</sup>	-2,16	-1,09
Высокий фон минерального питания, 2005 год <sup>a</sup>	-3,03	0,41
Оптимальный срок посева, 2005 год	0,26	0,11
Ранний посев, 2006 год <sup>a</sup>	1,98	2,93
Оптимальный срок посева, 2006 год	0,35	1,45
Загущение, 2006 год	-0,40	-2,20
Высокий фон минерального питания, 2006 год <sup>a</sup>	-1,36	-0,48
Поздний посев, 2006 год	-0,89	-0,85
Засоление, 2006 год	0,18	1,98
Суммарный процент учтенной дисперсии	91	97

Примечание. <sup>a</sup> — варианты опыта, вносящие максимальный вклад в межгрупповые различия.

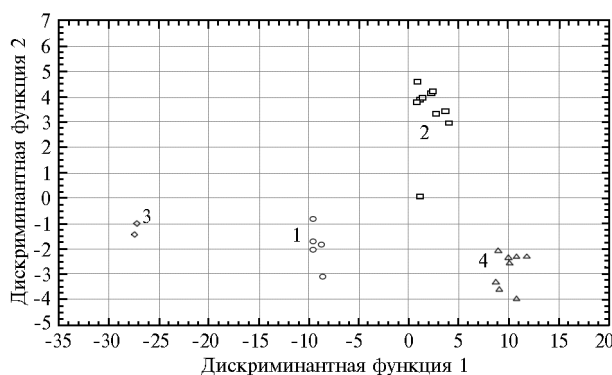


Рис. 2. Кластерное распределение сортов риса (*Oryza sativa* L.) российской селекции в пространстве двух дискриминантных функций по реакции на все изученные факторы внешней среды: 1 — первый кластер (G\_1:1), 2 — второй кластер (G\_2:2), 3 — третий кластер (G\_3:3), 4 — четвертый кластер (G\_4:4). Мера сходства — расстояние Махаланобиса ( $D^2$ ).

Абсолютные значения стандартизованных коэффициентов дискриминантных функций позволяют судить о вкладе конкретной переменной или варианта опыта в конечное значение функции и ответить на вопрос об их роли в межгрупповых различиях. В нашем случае максимальные абсолютные значения отмечали для пяти вариантов опыта, которые вносили максимальный вклад в разделение групп по реакции на условия среды: ранний посев в 2006 году, повышенный фон минерального питания

в 2005 и 2006 годах, загущение и недостаток влаги в 2005 году. Сле-

дует отметить, что стандартные условия выращивания во все годы исследования в меньшей степени позволяли дифференцировать образцы, о чем свидетельствовали сравнительно низкие абсолютные значения коэффициентов дискриминантных функций.

Одним из результатов дискриминантного анализа была оценка степени сходства реакции на условия среды выделенных групп посредством вычисления расстояния между их центроидами. В качестве меры сходства выступало расстояние Махаланобиса ( $D^2$ ), которое оказалось максимальным между третьей, второй и четвертой группами, что свидетельствует о наиболее значительных генетических различиях между ними (рис. 2).

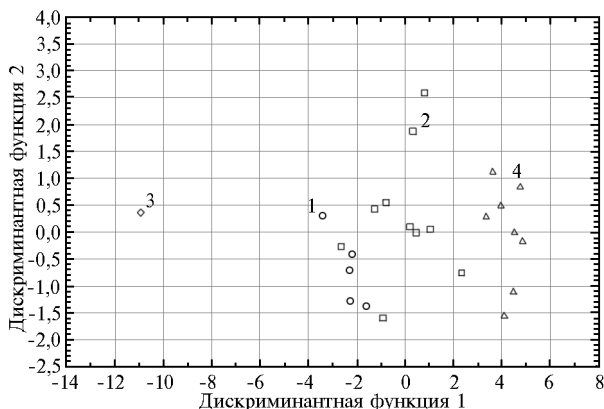
Для выявления группы сортов с максимальными показателями продуктивности в разных условиях среды в анализ также включили модель сорта, которой присвоили наибольшее значение массы зерна с растения во всех исследуемых вариантах опыта. Модельный (идеальный) сорт кластеризовался вместе с сортом Курчанка. Сорта из первой группы оказались наиболее близки по продуктивности к модельному сорту во всех вариантах опыта, то есть наиболее стабильно проявляли высокую продуктивность в изучаемых условиях. К первой группе относились сорта Дальневосточный, Изумруд, Павловский, Приморский, Фонтан; ко второй — Аметист, Боярин, Дружный, Лидер, Рапан, Спринт, Хазар, Юпитер, Янтарь; к третьей — сорт Курчанка и модель идеального сорта; к четвертой — сорта Жемчуг, Касун, Лиман, Садко, Серпантин, Снежинка, Стрелец, Факел. Оценка с использованием критерия Фишера показала достоверность различий между третьей и четвертой группами (кластерами) (вероятность нуль-гипотезы 0,035), а также между первой и четвертой группами (вероятность нуль-гипотезы 0,048). Первая и вторая группы сортов различались недостоверно.

Абсолютные значения стандартизированных коэффициентов дискриминантных функций не только позволяют судить о вкладе конкретной переменной в эту функцию и определить ее роль в межгрупповых различиях, но и сократить число изучаемых вариантов. Так, если абсолютная величина стандартизированных коэффициентов дискриминантных функций переменной (варианта опыта) мала, то ее можно исключить из анализа. Эта процедура называется определением информативного списка признаков. Мы воспользовались ею для установления условий среды, которые позволят максимально полно выявить межгрупповые различия при сокращении числа вариантов опыта.

Наиболее значительное сокращение вариантов опыта обеспечивает пошаговый анализ назад, который мы использовали для решения задачи. Было установлено, что даже два варианта опыта позволяют достоверно разделить группы сортов по реакции на условия среды. В 2005 году в вариантах с высоким фоном минерального питания и недостатком влаги была получена максимально высокая продуктивность образцов по сравнению с показателем в 2004 и 2006 годах. Следовательно, условия среды, благоприятные для реализации потенциала продуктивности сортов, позволяют корректно сравнивать образцы. Создание стресса на фоне других благоприятных факторов расширяет размах варьирования признаков и дисперсию в опыте, в результате чего удается более достоверно разделить сорта на группы.

В генетических исследованиях чаще всего требуется выделить наиболее характерных представителей каждого кластера (группы). В этом случае отнесение пограничных образцов не в свою группу не снижает эффективности работы. Следовательно, наша задача — максимально сократить число вариантов опыта и в то же время добиться сохранения точности выделения характерных представителей кластера.

Результаты кластеризации исследуемых сортов риса при использо-



**Рис. 3.** Кластерное распределение сортов риса (*Oryza sativa* L.) российской селекции в пространстве двух дискриминантных функций по реакции на высокий фон минерального питания и недостаток влаги: 1 — первый кластер (G\_1:1), 2 — второй кластер (G\_2:2), 3 — третий кластер (G\_3:3), 4 — четвертый кластер (G\_4:4).

расстояние каждого сорта от центра группы. Образцы с минимальным расстоянием от него — это наиболее характерные представители группы, которые могут использоваться как источники генов по изучаемому признаку, контрастные формы при подборе пар для гибридизации или молекулярном маркировании и локализации генов количественных признаков.

## 2. Корректность отнесения сортов риса (*Oryza sativa* L.) в кластеры (группы) при дискриминантном анализе с сокращенным числом вариантов опыта относительно исходного

Группа	Процент корректных отнесений	G_1:1	G_2:2	G_3:3	G_4:4
G_1:1	100,0000	5	0	0	0
G_2:2	70,0000	2	7	0	1
G_3:3	100,0000	0	0	2	0
G_4:4	100,0000	0	0	0	8
Всего	88,0000	7	7	2	9

Примечание. G\_ — группа образцов, G\_1:1 — число образцов, относящихся к первой группе (при анализе всех вариантов опыта), отнесенных в свою группу в случае сокращения числа анализируемых вариантов при дискриминантном анализе.

## 3. Варианты опыта, выделенные при пошаговом анализе вперед, совокупное применение которых позволяет достоверно дискриминировать образцы сортов риса (*Oryza sativa* L.) на группы с разной адаптивностью и стабильностью продуктивности

Вариант	F	p
Высокий фон минерального питания, 2005 год	53,856	0,000
Недостаток влаги, 2005 год	4,736	0,021
Ранний посев, 2004 год	3,855	0,038
Оптимальный срок посева, 2005 год	3,089	0,068 <sup>a</sup>
Поздний посев, 2006 год	2,069	0,158 <sup>a</sup>
Загущение, 2005 год	4,271	0,029
Высокий фон минерального питания, 2006 год	2,198	0,141 <sup>a</sup>
Оптимальный срок посева, 2004 год	1,638	0,233 <sup>a</sup>
Загущение, 2006 год	1,179	0,359 <sup>a</sup>
Засоление, 2004 год	1,011	0,422 <sup>a</sup>

Примечание. <sup>a</sup> — варианты, недостоверно дискриминирующие образцы; F — критерий Фишера, p — вероятность отсутствия межгрупповых различий при использовании варианта опыта.

Для получения более точных результатов, например для составления баз данных по вкладу генетических систем в продуктивность или адаптивность, необходимо увеличить число вариантов опыта до значений,

вании двух выделенных вариантов опыта (высокий фон минерального питания и недостаток влаги) показали, что 88 % образцов были классифицированы верно, что приемлемо для генетических исследований. При этом в первой и третьей группах имело место полное совпадение с результатами оценки по всем вариантам опыта, а из второй группы только три образца попали в другой кластер (один — в четвертую группу и два были отнесены к первой) (рис. 3, табл. 2).

Дискриминантный анализ также показывает

позволяющих достоверно разделить и классифицировать образцы. Задача может быть выполнена с помощью пошагового анализа вперед, который в значительно меньшей степени сокращает число вариантов опыта. Использование такого анализа дало нам возможность выделить десять вариантов, которые позволяют со 100 % эффективностью разделить образцы на группы с различной адаптивностью и стабильностью продуктивности (табл. 3).

Таким образом, мы установили, что стандартные условия выращивания в меньшей степени позволяют дифференцировать сорта риса по реакции на факторы среды. Для определения стабильности и пластичности образца необходимо закладывать опыты, обеспечивающие более значительный размах варьирования признака при внешних воздействиях. В наших исследованиях этими условиями оказались повышенный фон минерального питания, повышенная плотность посева, недостаток влаги в фазу созревания и ранний посев. Наибольшую стабильность по продуктивности при дискриминантном анализе проявили сорта Дальневосточный, Изумруд, Павловский, Приморский, Фонтан, Аметист, Боярин, Дружный, Лидер, Рапан, Спринт, Хазар, Юпитер, Янтарь (первый и второй кластеры), которые мы рекомендуем использовать в качестве источников по признаку «стабильно высокая продуктивность в различных условиях среды». Сорта Курчанка, Жемчуг, Касун, Лиман, Садко, Серпантин, Снежинка, Стрелец, Факел (четвертый и третий кластеры) оказались менее стабильными, несмотря на то, что в одну из групп при кластеризации попал модельный идеальный сорт.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Драгавцев В.А. Итоги и задачи использования мирового генофонда ВИР для селекции сельскохозяйственных культур. Мат. науч.-прак. конф. «Современные проблемы генетики количественных признаков растений». СПб, 1997: 57.
2. Драгавцев В.А. Эколого-генетическая организация количественных признаков растений и теория селекционных индексов. В сб.: Экологическая генетика культурных растений. Краснодар, 2011: 31-50.
3. Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М. Генетические основы повышения продуктивности риса. Краснодар, 2015.
4. Гончарова Ю.К. Методика ускоренного районирования сортов риса. Мат. Межд. науч.-прак. конф. «Проблемы ресурсосберегающего производства и переработки экологически чистой сельскохозяйственной продукции». Краснодар, 2006: 49-50.
5. Харитонов Е.М., Бушман Н.Ю., Туманян Н.Г., Очкас Н.А., Верещагина С.А., Гончарова Ю.К. Совершенствование системы сортоиспытания риса. Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2015, 54(3): 328-333.
6. Xu Y., Souch J.H. Marker-assisted selection in plant breeding: from publication practice. Crop Sci., 2008, 48: 391-407 (doi: 10.2135/cropsci2007.04.0191).
7. Pariasca-Tanaka J., Satoh K., Rose T., Mauleon R., Wissuwa M. Stress response versus stress tolerance: a transcriptome analysis of two rice lines contrast in tolerance to phosphorus deficiency. Rice, 2009, 2: 167-185.
8. Peng S., Ismail A.M. Physiological basis of yield and environmental adaptation in rice. In: Physiology and biotechnology integration for plant breeding /H.T. Nguyen, A. Blum (eds.). Marcel Dekker, NY, 2004: 83-140.
9. Гончарова Ю.К., Харитонов Е.М. Генетический контроль признаков, связанных с усвоением фосфора у сортов риса (*Oryza sativa* L.). Вавиловский журнал генетики и селекции, 2015, 19(2): 197-204.
10. Гончарова Ю.К. О взаимосвязи между эффективностью работы фотосинтетического аппарата, адаптивностью и стабильностью урожайности у различных сортов риса. Сельскохозяйственная биология, 2006, 5: 92-103.
11. Ye G., Smith K.F. Marker-assisted gene pyramiding for cultivar development. Plant Breed. Rev., 2010, 33: 234 (doi: 10.1002/9780470535486.ch5).
12. Vinod K.K., Heuer S. Approaches towards nitrogen- and phosphorus-efficient rice. AoB Plants, 2012, 2012: pls028 (doi: 10.1093/aobpla/pls028).
13. Lea P.J., Mifflin B.J. Nitrogen assimilation and its relevance to crop improvement. Annual Plant Reviews, 2011, 42: 1-40 (doi: 10.1002/9781444328608.ch1).
14. Goncharova J.K., Kharitonov E.M. Rice tolerance to the impact of high temperatures. Agricultural Research Updates, 2015, 9: 1-37.

15. Воробьев Н.В. Формирование элементов структуры урожая риса в зависимости от температуры и уровня минерального питания. *Сельскохозяйственная биология*, 1988, 6: 17-20.
16. Wei D., Cui K., Ye G., Pan J., Xiang J., Huang J., Nie L. QTL mapping for nitrogen-use efficiency and nitrogen-deficiency tolerance traits in rice. *Plant Soil*, 2012, 359: 281-295 (doi: 10.1007/s11104-012-1142-6).
17. Ismail M., Heuer S., Thomson M.J., Wissuwa M. Genetic and genomic approaches to develop rice germplasm for problem soils. *Plant. Mol. Biol.*, 2007, 65(4): 547-570 (doi: 10.1007/s11103-007-9215-2).
18. Krishnan P., Rao A., Surya V. Effects of genotype and environment on seed yield and quality of rice. *J. Agr. Sci.*, 2005, 143: 283-292 (doi: 10.1017/S0021859605005496).
19. Moradi F., Ismail A.M. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS scavenging system to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. *Ann. Bot.*, 2007, 99: 1161-1173 (doi: 10.1093/aob/mcm052).
20. Pessarakli M., Szabolcs I. Soil salinity and sodicity as particular plant/crop stress factors. In: *Handbook of plant and crop stress* /M. Pessarakli (ed.). Marcel Dekker, NY, 2006: 1-16.
21. Seki M., Okamoto M., Matsui A., Kim J.-M., Kurihara Y., Ishida J., Morosawa T., Kawashima M., Kim To T., Shinozaki K. Microarray analysis for studying the abiotic stress responses in plants. In: *Molecular techniques in crop improvement* /S. Mohan Jain, D.S. Brar (eds.). Springer Netherlands, 2009: 333-355 (doi: 10.1007/978-90-481-2967-6\_14).
22. Senadheera P., Singh R.K., Frans J.M. Differentially expressed membrane transporters in rice roots may contribute to cultivar dependent salt tolerance. *J. Exp. Bot.*, 2009, 60(9): 2553-2563 (doi: 10.1093/jxb/erp099).
23. Thomson M.J., Ocampo M., Egdane J., Rahman M.A., Sajise A.G., Adorada D.L., Tumimbang-Raiz E., Blumwald E., Seraj Z.I., Singh R.K., Gregorio G.B., Ismail A.M. Characterizing the saltol quantitative trait locus for salinity tolerance in rice. *Rice*, 2010, 3: 148-160.
24. Turan S., Cornish K., Kumar S. Salinity tolerance in plants. *Breeding and genetic engineering. Aust. J. Crop. Sci.*, 2012, 6(9): 1337-1348.
25. Wang D.L., Zhu J., Li Z.K., Paterson A.H. Mapping QTLs with epistatic effects and QTL  $\times$  environment interactions by mixed linear model approaches. *Theor. Appl. Genet.*, 1999, 99: 1255-1264 (doi: 10.1007/s001220051331).
26. Cho Y.I., Jiang W., Chin J.-H., Piao Z., Cho Y.G., McCouch S.R., Koh H.J. Identification of QTLs associated with physiological nitrogen use efficiency in rice. *Mol. Cells*, 2007, 23(1): 72-79.
27. Sexcion F.H., Egdane J.A., Ismail A.M., Sese M.L. Morpho-physiological traits associated with tolerances of salinity during seedling stage in rice (*Oryza sativa* L.). *Philippine Journal of Crop Science*, 2009, 34: 27-37.
28. Pessarakli M., Szabolcs I. Soil salinity and sodicity as particular plant/crop stress factors. In: *Handbook of plant and crop stress* /M. Pessarakli (ed.). Marcel Dekker, NY, 2006: 1-16.
29. Синская Е.Н. Анализ сортовых популяций подсолнечника по реакции на длину дня. Краткий отчет о научно-исследовательской работе за 1957 год. Краснодар, 1958: 124-128.
30. Синская Е.Н. Исследования биологии развития и физиологии растений масличных и эфиромасличных культур. В сб: *Масличные и эфиромасличные культуры*. М., 1963: 229-250.
31. Драгавцев В.А. Основные методы оценки наследственности количественных признаков у растений. В сб.: *Методы исследований с зернобобовыми культурами*. Орел, 1971: 77-92.
32. Литун П.П. Взаимодействие генотип—среда в генетических и селекционных исследованиях и способы его изучения. В сб. науч. тр.: *Проблемы отбора и оценки селекционного материала*. Киев, 1980: 63-99.
33. Gomez K.A., Gomez A.A. *Statistical procedures for agricultural research*. John Wiley & Sons, NY, 1984.
34. Zelditch M., Swiderski D., Sheets H. *Geometric morphometrics for biologists*. Academic Press, 2012.
35. Ефимов В.М., Ковалева В.Ю. *Многомерный анализ биологических данных*. СПб, 2008.
36. Шеглов С.Н. *Математические методы в биологии. Реализация с использованием пакета Statistica 5.5. Методические указания*. Краснодар, 2004.
37. Боровиков В.П. *Статистика: искусство анализа данных на компьютере*. СПб, 2001.
38. Пузаченко Ю.Г. *Математические методы в экологических и географических исследованиях*. М., 2004.
39. Тюрин В.В., Морев И.А., Волчков В.А. *Дискриминантный анализ в селекционно-генетических исследованиях*. Краснодар, 2002.
40. Дмитриев Е.А. *Математическая статистика в почвоведении*. М., 2009.
41. Иванюкевич Г.А. *Статистический анализ экологических данных. Практикум решения задач с помощью пакета программ Statistica*. СПб, 2010.
42. Кирюшин Б.Д. *Методика научной агрохимии. Ч. 2. Постановка опытов и статистико-агрохимическая оценка их результатов*. М., 2005.
43. Кулаичев А.П. *Методы и средства комплексного анализа данных*. М., 2006.



44. Харитонов Е.М., Гончарова Ю.К., Иванов А.Н. Применение кластерного анализа для разделения сортов по реакции на изменение условий среды. Вестник РАСХН, 2014, 6: 32-35.
45. Харитонов Е.М., Гончарова Ю.К., Иванов А.Н. Совершенствование методов оценки селекционного материала. Доклады РАСХН, 2014, 4: 8-10.
46. Шейден А.Х., Бондарева Т.Н. Агрехимия. Ч. 2. Методика агрохимических исследований. Краснодар, 2015.

ФГБНУ Всероссийский НИИ риса,  
350921 Россия, г. Краснодар, пос. Белозерный,  
e-mail: serggontchar@mail.ru

Поступила в редакцию  
14 декабря 2016 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2017, V. 52, № 1, pp. 152-160

## APPLICATION OF MULTIDIMENSIONAL METHODS TO SEPARATE VARIETIES ON THEIR RESPONSE TO ENVIRONMENT FACTORS

*E.M. Kharitonov, Yu.K. Goncharova, N.A. Ochkas, V.A. Sheleg, S.V. Bolyanova*

All-Russian Research Institute of Rice, Federal Agency of Scientific Organizations, pos. Belozernii, Krasnodar, 350921 Russia, e-mail serggontchar@mail.ru

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported by Russian Foundation for Basic Research (grant № 16-04-230207)

Received December 14, 2016

doi:10.15389/agrobiol.2017.1.152eng

### Abstract

Till now, the areas under rice crops are mostly occupied with the limited number of varieties. For enriching genetic biodiversity, it is necessary to improve selection of unique rice genotypes, and provide ecologically-based location of each variety. Now the efficiency of breeding is decreasing because of incomplete characterization of potentially donor genotypes. Presently, the domestic standards for competitive state trial do not cover a detailed study of the samples, since the developed varieties are tested at a single level of mineral nutrients with no estimation of a response to stressful influences and yield production sustainability. That leads to rejection of those highly productive samples for which such conditions are not optimal. In the present work we firstly summarized methods to comprehensively characterize adaptive plasticity of rice plants under contrast conditions (i.e. different dates for planting, various levels of mineral nutrition and stressors). In a multifactorial experiment with 19 combinations of the factors tested, we investigated yield variability in 24 Russian rice (*Oryza sativa* L.) varieties. The samples were planted on April 15, May 15, or June 15 and grown at optimum (N<sub>120</sub>P<sub>60</sub>K<sub>60</sub>) and excess (N<sub>240</sub>P<sub>120</sub>K<sub>120</sub>) fertilizer rates, in thin and dense crops (200 or 300 plants per square meter, respectively), under artificial salinization (0.35 % NaCl added to the soil at tillering). The data were processed using cluster and discriminant analysis. The multidimensional statistical methods allow us to clusterize the varieties into four groups with the closest characteristics as influenced by the full set of studied factors, and then to allocate distinct factors for the most precise discrimination between the samples. A standard cultivation was found to be less effective for developing plant plasticity. It is more correct to compare samples when the conditions are favorable for plant performance and productivity potential. Stresses, in combination with favorable factors, contribute to an increase in trait variability and dispersion, resulting in more accurate dividing varieties into groups. In our case study, with the use of «step-by-step analysis back» module we reduced the number of discriminating factors to two ones adequate for 100 % reliable allocation of typical representatives of the groups. High mineral levels and water deficit were enough to truly classify 88 % of the samples. This is sufficient in genetic research where it is necessary to select the most typical representatives. Samples of the groups 1 and 3 have been classified correctly, and only three varieties of the group 2 have got to another cluster. The discriminant analysis also shows distance of each variety from the center of the group. Samples with the minimum distance are the most typical representatives which can be used as genetic sources of desired traits, as contrast parental forms in hybridization, or involved in marker-assisted selection and GTL mapping. Early planting, dense crops, high fertilizer rates, and lack of water were the factors which mostly influenced on the clear separation of the samples into clusters according to how the varieties responded to external environment. The virtual «ideal variety» (a model) and Kurchanka variety were grouped in the same cluster, and the varieties from the group 1 were close to the «ideal variety» on the response to environment. Despite high yield production, the dispersion in the group 3 which includes Kurchanka and the model variety was 3 times as much as in other groups. Therefore, stability of the varieties was lower in this cluster (group 3) as compared to the first and the second clusters (groups 1 and 2).

Keywords: rice, *Oryza sativa*, multidimensional methods, cluster analysis, estimation of breeding material, discriminant analysis.