УДК 635. 657: [631.52:577.2] **Исследовательская статья**

Повышение эффективности и усовершенствование техники гибридизации нута (*Cicer arietinum* L.) с использованием морфологических и молекулярных маркеров

Дженисбаева А.М., Майкотов Б.Н., Байтаракова К.Ж., Ержебаева Р.С.

ТОО «Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства», с. Алмалыбак, Казахстан

Автор-корреспондент: Дженисбаева А.М.: jenisbayeva@gmail.com
Соавторы: (1: БМ) maikotov.bekzhan@mail.ru; (2: КБ) kuralai_baitarakova@mail.ru, (3: РЕ) raushan_2008@mail.ru

Получено: 10.07.2026 **Принято:** 15.09.2026 **Опубликовано:** 30.09.2026

Авторские права: Дженисбаева А.М., и др. Данная статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Аннотация

Предпосылки и цель. Нут (*Cicer arietinum* L.) – одна из важнейших зернобобовых культур, возделываемых в засушливых регионах мира, однако его гибридизация затруднена из-за мелких размеров цветка и высокой чувствительности репродуктивных органов к механическим повреждениям. Целью исследования являлось повышение эффективности гибридизации нута в условиях юго-востока Казахстана посредством применения комплексного подхода, сочетающего использование морфологических и молекулярных маркеров.

Материалы и методы. В 2024–2025 гг. исследованы 33 генотипа нута экотипов «Дези» и «Кабули». Для оценки генетического полиморфизма родительских форм использовали пять STMS-маркеров (TA37, TA110, TA27, TA96 и TA194). Эффективность четырех методов гибридизации оценивали по показателю завязываемости бобов, а гибридное происхождение потомства подтверждали с использованием молекулярных маркеров.

Результаты. Наиболее информативными для дифференциации родительских форм оказались STMS-маркеры TA96 и TA194, выявившие 8 и 9 аллелей соответственно. Результаты гибридизации выявили завязываемость бобов 2% и 4,7% в методах с кастрацией и без кастрации, соответственно. Различие между методами было статистически значимым ($\chi^2 = 4,027$; $p = 0,045$). Среди отдельных вариантов опыта наибольшая завязываемость (4,9%) была отмечена при сочетании метода без кастрации с обработкой смесью фитогормонов GA_3, NAA и кинетина.

Заключение. Гибридизация нута без кастрации обеспечивает более высокую, но всё ещё практически низкую завязываемость бобов, что указывает на необходимость дальнейшей методической оптимизации. Для селекционной практики метод без кастрации рекомендуется применять в сочетании с обязательной молекулярной верификацией гибридов, поскольку доля истинных гибридов при этом методе ниже, чем при кастрации.

Ключевые слова: нут; метод гибридизации; молекулярный маркер; морфологический маркер; STMS-маркер.

Введение

Нут (*Cicer arietinum* L.) – одна из основных зернобобовых культур, богатая незаменимыми аминокислотами и пищевыми волокнами [1]. Он возделывается в засушливых и полузасушливых регионах. Его производство стратегически важно для продовольственной безопасности и экономики более 50 стран [2]. С 1961 года мировая урожайность нута неуклонно растет, увеличиваясь в среднем на 6 кг/га в год [3]. Этот рост обусловлен совершенствованием агротехники и растущим признанием питательной ценности культуры. Содержание белка в нуте варьируется от 16% до 22% в зависимости от генотипа [4]. Согласно данным FAOSTAT (2024), мировое производство нута сконцентрировано преимущественно в Азии, на долю которой приходится около 73% валового сбора. Крупнейшим производителем остается Индия – на нее приходится

примерно 64% мирового объема. Казахстан занимает 20-е место в мире по объёму производства нута с показателем 10 968 т, что отражает постепенное расширение его возделывания в стране [5]. В условиях прогрессирующего дефицита водных ресурсов в южных и юго-восточных регионах Казахстана особую актуальность приобретает внедрение засухоустойчивых культур [6]. Нут, благодаря развитой корневой системе и способности эффективно использовать почвенную влагу, является одной из наиболее перспективных зернобобовых культур для аридных и семиаридных зон Центральной и Западной Азии, Северной Африки, Ближнего Востока, а также Австралии [7, 8]. Его возделывание может способствовать диверсификации посевных площадей, повышению устойчивости богарного земледелия и укреплению продовольственной безопасности Казахстана.

Сорта нута разделяют на два четко различающихся экотипа, имеющих различное географическое распространение и хозяйственное использование: кабули (*macrosperma*) и дези (*microsperma*). Нут Кабули имеет крупные или средние, светлые семена с тонкой семенной оболочкой, и белый венчик цветка, тогда как Дези – более мелкие, угловатые, с толстой темно-коричневой оболочкой и фиолетовым окрасом цветка [9]. По данным платформы Genesys, в разделе «Accession data» по полнотекстовому запросу «chickpea» зарегистрировано около 86 тыс. образцов нута. После выгрузки данных в формате Excel и фильтрации по стране происхождения («Origin/Provenance of material – Kazakhstan») выявлено около 40 образцов казахстанского происхождения [10]. В Казахстане ведутся селекционные исследования, однако их результативность сдерживается низкой завязываемостью при искусственной гибридизации, что обусловлено биологическими особенностями культуры и неблагоприятными климатическими условиями.

В современной селекции нута основным методом создания новых генотипов остаётся внутривидовая гибридизация (с кастрацией или без кастрации) с последующим отбором ценных рекомбинантных форм. Однако, этот процесс считается сложным по нескольким причинам. Во-первых, нут является строго самоопыляющимся видом, а его цветки имеют мелкие размеры, что делает искусственное скрещивание трудоёмким процессом [11, 12]. Во-вторых, низкая эффективность гибридизации часто объясняется механическим повреждением пестика во время кастрации, а сама процедура удаления тычинок у нута считается кропотливой и отнимающей много времени [11–13]. В-третьих, успех скрещивания критически зависит от внешних условий: оптимальная температура составляет 22–26 °C, тогда как повышение выше 30°C снижает выживаемость гибридов примерно на 40%, кроме того, важны влажность и точный выбор стадии развития бутона [12]. Правильный выбор родительских форм также играет ключевую роль. По литературным данным использование мелкосемянной материнской формы с фиолетовыми цветками повышает успех завязывания бобов, тогда как попытка использовать крупносемянную форму в качестве материнского генотипа снижает успех скрещиваний на 70–80% [12]. В совокупности эти биологические и методические факторы обусловливают традиционно низкую эффективность гибридизации у нута при использовании метода с кастрацией – от 3 до 10% [11, 14, 15].

Однако, даже при успешном проведении гибридизации часть полученных семян оказывается результатом самоопыления. Морфологические маркеры (например, окраска цветка или форма листьев) не всегда достаточны для различия гибридных растений, особенно когда родительские формы не имеют контрастных признаков [16]. В связи с этим необходимо использование STMS-маркеров, которые позволяют выявлять полиморфизм между родительскими генотипами и обеспечивать надежную идентификацию истинных гибридных растений. Данные маркеры представляют собой кодоминантные, высоковоспроизводимые и недорогие инструменты, позволяющие достоверно верифицировать истинные гибриды F1 [16, 17].

Целью исследования является повышение эффективности завязывания бобов у нута путём применения комплекса методов, включающего морфологический и молекулярный анализ родительских генотипов, сравнительную оценку различных способов гибридизации, а также молекулярно-генетическую верификацию гибридов F1 с использованием STMS-маркеров.

Материалы и методы

Объекты исследования

Материалом исследований служили 33 образца нута мировой коллекции, включающие экотипы «Дези» и «Кабули». Морфологическое описание каждого генотипа проводили согласно

классификации UPOV (2020) на основе визуального анализа не менее 20 семян и 5 растений в фазе массового цветения [18]. Анализировались следующие морфологические признаки: цвет венчика (белый или фиолетовый), размер семян (от очень мелких до очень крупных) и цвет семян (от кремового до черного).

Место проведения опытов и полевой эксперимент

Опыты по искусственной гибридизации цветков нута проводили на научно-полевом стационаре отдела зернобобовых культур Казахского научно-исследовательского института земледелия и растениеводства (КазНИИЗиР) в 2024 и 2025 годах Стационар расположен в предгорной зоне Алматинской области (43.247618° с.ш., 76.679462° в.д., высота 740 м н.у.м.). Почва региона светлокаштановая, среднесуглинистая, с низким содержанием гумуса (1,6–1,9%). Климат Алматинской области континентальный, засушливый, с жарким летом и мягкой зимой. Посев родительских генотипов нута проводили в третьей декаде апреля. Каждый генотип высевали по 4 ряда длиной 1 п.м. с шириной междурядья 30 см. Норма высева составляла 20–25 семян на ряд. Эксперимент закладывали в условиях богары.

Метеорологические условия вегетационного периода нута

Погодные данные регистрировали автоматической метеостанцией iMetos (IMT300USW, Pessl Instruments, Австрия). Данные о среднесуточной температуре воздуха и количестве осадков за период с апреля по август 2024 и 2025 гг., в сравнении со среднемноголетними показателями представлены на рисунке 1.

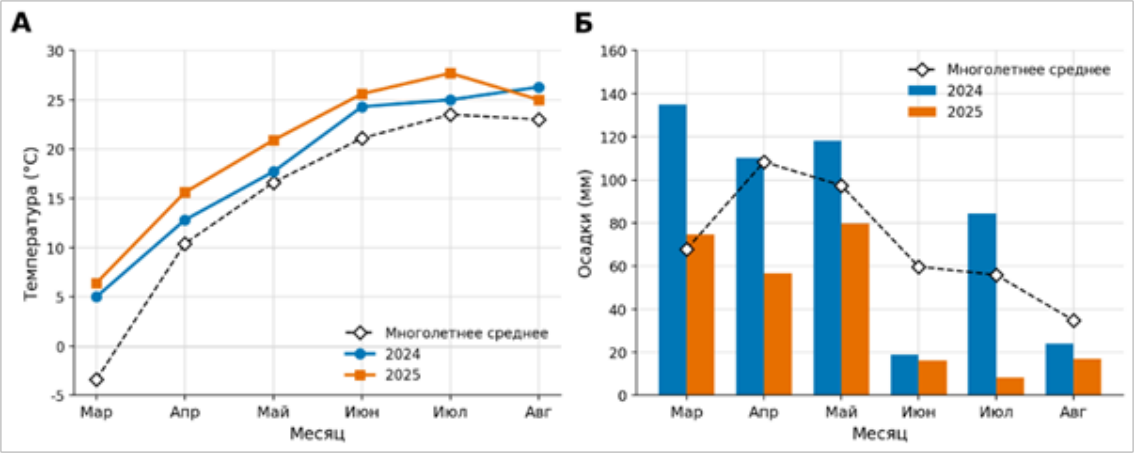


Рисунок 1. Динамика среднесуточной температуры воздуха (А) и количества осадков (Б) за вегетационные периоды нута (апрель–август) в 2024 и 2025 гг. в сравнении со среднемноголетними данными

В 2024 г. весна была аномально влажной (осадки за март-май – 368,0 мм, на 34% выше среднемноголетнего), а июнь – экстремально засушливым (19,7 мм, на 67% ниже среднемноголетнего). В 2025 г. количество осадков за март–май составило 214,4 мм, что на 22% ниже среднемноголетних значений. Температурный режим в оба года значительно не различался и был выше среднемноголетних значений на 1,3–4,0 °C.

Методы проведения искусственной гибридизации

Гибридизацию проводили в утренние часы (с 5:00 до 9:00). Все скрещивания выполнялись в период с третьей декады мая до второй декады июня, совпадающий с фазой массового цветения родительских генотипов.

В ходе исследований были апробированы четыре варианта искусственной гибридизации: с кастрацией пыльников цветка и без кастрации, а также их последующая обработка фитогормональным раствором. Для обработки использовали раствор регуляторов роста, содержащий гиббереллловую кислоту (GA3) в концентрации 120 мг/л, 1-нафтилуксусную кислоту (NAA) – 30 мг/л и кинетин – 15 мг/л. Состав и концентрации компонентов были выбраны согласно ранее опубликованной методике [19] и отдельно в настоящем исследовании не оптимизировались. Раствор опрыскивали три раза локально на опылённые цветки с помощью ручного пульверизатора сразу после опыления.

Выбор стадии развития цветка нута для гибридизации

Для проведения искусственной гибридизации мы использовали методику, разработанную *S. Kalve* и *M. Tadege* (2017) [12]. Авторы показали, что эффективность скрещивания во многом определяется правильным выбором стадии развития цветка для кастрации и опыления. Следуя их рекомендациям, для кастрации материнских растений мы применяли стадию бутона с сомкнутыми лепестками, на которой рыльце пестика уже сформировано и готово к восприятию пыльцы, тогда как пыльники остаются незрелыми и не содержат жизнеспособных пыльцевых зерен (рисунок 2, a–d).



Рисунок 2. Стадии развития цветка нута, использованные при искусственной гибридизации: a–d – бутон материнского генотипа F98-108 с сомкнутыми лепестками, выбранный для кастрации; e–g – полураскрытый цветок отцовского генотипа F98-108, использованный для сбора пыльцы; h – собранная пыльца. Фотографии были получены с использованием встроенной камеры смартфона Apple iPhone 14 Pro (Apple Inc., США) в режиме макросъёмки; разрешение исходных изображений составляло 4032 × 3024 пикселя

Это позволяет проводить кастрацию с минимальным повреждением женского гаметофита и практически полностью исключает риск самоопыления. Пыльцу отцовских растений собирали на стадии полураскрытого цветка. В этот период пыльца полностью созревает, приобретает ярко-жёлтую окраску и слегка клейкую консистенцию, что облегчает её сбор и перенос на рыльце (рисунок 2, e–h).

Молекулярно-генетический анализ

Для оценки генетического разнообразия родительских форм и подтверждения гибридности F1 использовали пять STMS-маркеров (TA37, TA194, TA110, TA96, TA27) с температурами отжига 55–62 °C (таблица 1).

Таблица 1. Список микросателлитных (STMS) маркеров, использованных для оценки генетического разнообразия нута и верификации гибридов F_1

Наименование маркера	Нуклеотидная последовательность (F/R)	T отжига	Диапазон фрагментов, п.н.
TA194	TTTTTGGCTTATTAGACTGACTT / TTGCCATAAAATACAAAATCC	55	100–350
TA110	ACACTATAGGTATAGGCATTTAGGCAA / TTCTTTATAAATATCAGACCGGAAAGA	55	250–450
TA37	ACTTACATGAATTATCTTTCTTGGTCC / CGTATTCAAATAATCTTTCATCAGTCA	55	110–430
TA27	GATAAAATCATTATTGGGTGTCCTTT / TTCAAATAATCTTTCATCAGTCAAATG	62	115–315
TA96	TGTTTTGGAGAAGAGTGATTC / TGTGCATGCAAATTCTTACT	62	285–600

ДНК выделяли из листьев 10-дневных проростков нутов по модифицированному методу *Dellaporta*, 1983 [20]. ПЦР (амплификатор Eppendorf Mastercycler pro) проводили в 20 мкл смеси, содержащей 100 нг ДНК; 10× ПЦР-буфер («Биолабмикс», Россия), смесь dNTP (по 2,5 мМ каждого нуклеотида); по 25 мМ прямого и обратного праймера; MgCl2 (2,5 мМ) и 1 U Taq-полимеразы («Биолабмикс», Россия). Амплификацию проводили по следующей программе: первичная денатурация при 94 °С в течение 3 мин; 35 циклов, включавших денатурацию при 94 °С в течение 15 с, отжиг праймеров при 55 или 62 °С в течение 20–40 с в зависимости от используемого STMS-маркера и элонгацию при 72 °С в течение 60 с; финальная элонгация при 72 °С в течение 5 мин. Продукты амплификации разделяли в 8%-ном полиакриламидном геле (Sigma Life Science, США), окрашивали бромистым этидием и визуализировали с использованием системы Quantum ST 4 (Франция). Гибридными считали растения, в генотипе которых выявлялись аллели обоих родительских форм (гетерозиготный паттерн).

Статистическая обработка данных

Для оценки генетического разнообразия 33 образцов нута использовали данные о длинах амплифицированных фрагментов, полученных с помощью пяти STMS-маркеров. Матрицы генетического сходства рассчитывали по евклидовой метрике. Кластеризация и построение дендрограммы выполнена по методу UPGMA на основе евклидовой метрики в программе Past v. 5.3.

Эффективность различных вариантов гибридизации оценивали по показателю завязываемости, который высчитывали как отношение количества успешно сформировавшихся бобов к общему числу опыленных цветков, выраженное в процентах:

$$\text{Завязываемость}(\%) = \frac{\text{Количество завязанных бобов}}{\text{Количество опыленных цветков}} \times 100\%$$

Для оценки статистической значимости различий в завязываемости бобов по каждому из двух факторов гибридизации (способ кастрации и фитогормональная обработка) использовали критерий χ^2 Пирсона для таблиц сопряжённости 2×2. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Расчёты были выполнены в программе JASP версии 0.98.1.0.

Результаты

Подбор родительских форм для проведения опытов гибридизации по морфологическим и молекулярным маркерам

В 2024–2025 годах проведён морфологический анализ 33 образцов нута коллекционного материала КазНИИЗиР. Оценку признаков осуществляли согласно классификации UPOV (2020) по параметрам окраса венчика, размера и цвета семян, а также продолжительности межфазного периода «бутонизация-цветение», выраженной в сутках (таблица 2).

Таблица 2. Морфологическая характеристика родительских форм нута

№	Наименование образца	Цвет венчика	Размер семени	Цвет семени	Период «бутонизация-цветение», сутки
1	Д 9033	белый	крупный	серо-коричневый	4
2	3333	фиолетовый	средний	черный	4
3	Мальхотра	фиолетовый	средний	темно коричневый	4
4	К-837	белый	крупный	серо-коричневый	4
5	Д 9905	белый	средний	серо-коричневый	4
6	28-Б	фиолетовый	средний	коричневый	4
7	К-859	фиолетовый	средний	коричневый	4
8	Д-8407	белый	крупный	серо-коричневый	4
9	Д-9022	белый	крупный	серо-коричневый	4

№ 3 (131)/2026 ISSN 3135-243X, 3135-2448

Продолжение таблицы 2

10	К-26	фиолетовый	мелкий	коричневый	4
11	К-1744	фиолетовый	средний	коричневый	4
12	23215	белый	средний	серо-коричневый	4
13	F 98-108	белый	очень крупный	кремовый	6
14	К-21	белый	средне-мелкий	светло-коричневый	4
15	К-1173	фиолетовый	средний	черный	4
16	F 98-130	белый	крупный	серо-коричневый	4
17	К-979	белый	крупный	серо-коричневый	4
18	К-284	фиолетовый	средний	коричневый	4
19	К-642	фиолетовый	средний	черный	4
20	31224	белый	крупный	серо-коричневый	4
21	F 97-50	белый	очень крупный	серо-коричневый	2
22	К-546	фиолетовый	средний	коричневый	10
23	К-104	фиолетовый	средний	коричневый	6
24	Д-10504	белый	средний	кремовый	4
25	F97-173	белый	крупный	кремовый	5
26	Сымбат	белый	крупный	кремовый	5
27	ICC-5135	фиолетовый	очень мелкие	зеленый	5
28	ICC-1164	фиолетовый	мелкие	желтый	4
29	ICC-1392	фиолетовый	мелкие	коричневый	4
30	ICC-708	фиолетовый	мелкие	коричневый	4
31	ICC-1083	фиолетовый	мелкие	красновато-коричневый	4
32	К-879	белый	крупные	кремовый	5
33	ICC-1161	фиолетовый	очень мелкие	желтый	5

Для наглядной демонстрации морфологического разнообразия родительских генотипов и полученных гибридных семян были выполнены фотофиксации семян. На рисунке 3 представлены семена родительских форм, использованных в скрещиваниях.



Рисунок 3. Морфологическое разнообразие семян родительских форм нута

По окраске венчика изученные образцы разделились на две основные группы: белоцветковые (18 генотипов) и фиолетово-цветковые (15 генотипов). Белоцветковые формы преимущественно представлены крупносемянными генотипами с серо-коричневой или кремовой окраской семян, что соответствует экотипу кабули (macrosperma). Фиолетово-цветковые формы характеризовались мелкими и средними семенами тёмных оттенков (коричневый, чёрный, красновато-коричневый, жёлтый, зелёный), что типично для экотипа дези (microsperma). Наиболее крупные семена отмечены у образцов F 98-108 и F 97-50, а самые мелкие – у ICC-5135 и ICC-1161. По срокам цветения большинство генотипов вступают в фазу бутонизации в период с 27 мая по 9 июня, цветение начинается с 1 по 13 июня. При этом, белоцветковые формы характеризовались более ранним цветением по сравнению с фиолетово-цветковыми, что учитывалось при планировании скрещиваний.

Для оценки генетического разнообразия образцов нута и объективного подбора контрастных родительских пар были использованы пять микросателлитных (STMS) маркеров: TA194, TA110, TA37, TA27 и TA96 [21].

Анализ аллельного разнообразия показал, что изученные маркеры существенно различаются по информативности. Наибольшим полиморфизмом характеризовались маркеры TA96 и TA194, каждый из которых выявил по 8 и 9 аллелей соответственно.

Маркер TA194 выявил ампликоны в диапазоне 100-340 п.н., а маркер TA96 показал длины в диапазоне 260-370 п.н. Это свидетельствует о высокой вариабельности данных локусов и их пригодности для дифференциации генотипов. Средний уровень полиморфизма отмечен для TA110 (4 аллеля) и TA27 (5 аллелей). Наименее информативным был TA37 (3 аллели), что ограничивает его использование для дифференциации близкородственных генотипов. Результаты ПЦР-анализа с использованием наиболее полиморфных маркеров TA194 и TA96 представлены на рисунке 4.

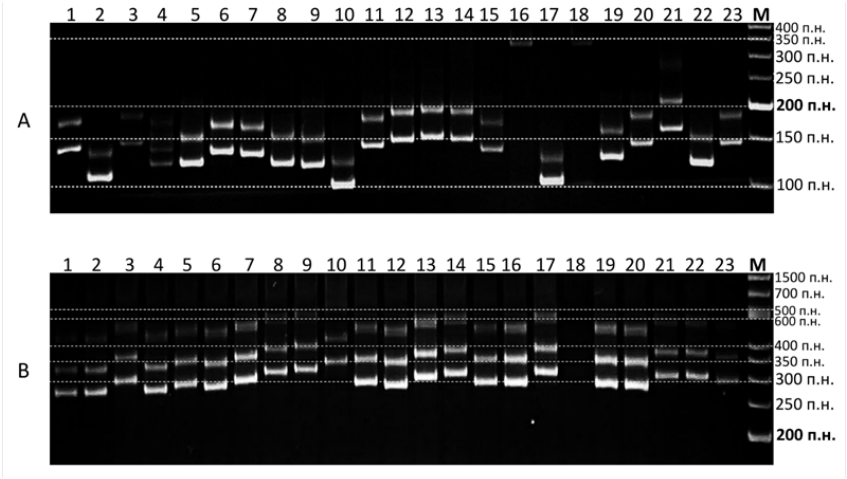


Рисунок 4. Электрофоретические профили продуктов ПЦР 23 родительских генотипов нута с использованием полиморфных STMS-маркеров: A – TA194; B – TA96. Обозначения дорожек: 1 – Д 9033; 2 – 3333; 3 – Мальхотра; 4 – К-837; 5 – Д 9905; 6 – 28-Б; 7 – К-859; 8 – Д-8407; 9 – Д-9022; 10 – К-26; 11 – К-1744; 12 – 23215; 13 – F 98-108; 14 – К-21; 15 – К-1173; 16 – F 98-130; 17 – К-979; 18 – К-284; 19 – К-642; 20 – 31224; 21 – F 97-50; 22 – К-546; 23 – К-104.

Анализ генетического разнообразия 33 образцов нута с использованием 5 STMS-маркеров позволил построить дендрограмму, на которой при дистанции около 300 все образцы разделились на два основных кластера (рисунок 5).

Первый кластер представлен образцами К-879, К-979 и К-642, которые значительно отличаются от остальной части выборки по большинству изученных маркеров. Второй кластер включает все остальные образцы и подразделяется на подкластеры, отражающие принадлежность к экотипам «Дези» и «Кабули», а также различия по морфологическим признакам. Высокий коэффициент копенетической корреляции (r = 0.9897) подтверждает надежность построенной кластеризации.

На основе комплексного морфологического и молекулярно-генетического анализа были выбраны генотипы Д9905, 28-5, Д-8407, К-859, F97-50, К-284, Д-10504, К-104, F98-108, К-979, F98-130 для гибридизации методом кастрации пыльников.

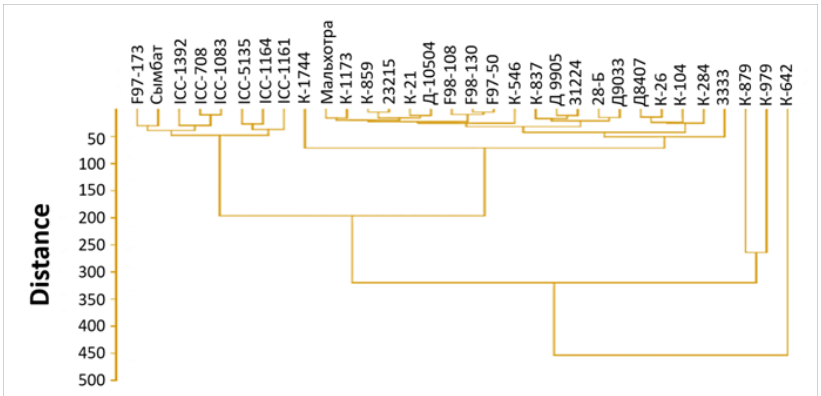


Рисунок 5. Дендрограмма генетического разнообразия 33 образцов нута по данным 5 STMS-маркеров

Результаты опытов скрещиваний

Гибридизация нута проводилась в течение двух этапов (2024–2025 гг.) на базе КазНИИЗиР. На первом этапе, в 2024 году выполнялись эксперименты гибридизации методом кастрации на выявление генотипов, наиболее отзывчивых к скрещиванию, а также родительских форм, оптимально подходящих в качестве материнских цветков. На втором этапе, в 2025 году на основе полученных результатов были отобраны наиболее перспективные генотипы и апробированы четыре варианта гибридизации. Объединённые результаты, полученные на обоих этапах исследования, представлены в таблице 3.

Таблица 3. Результаты гибридизации нута (*Cicer arietinum* L.) в 2024–2025 гг.

Этап	Год	Вариант гибридизации	Общее количество опылённых цветков	Завязывае-мость, (%)	Доля истинных гибридов (%)
С кастрацией					
1 этап	2024	Подбор родительских форм	680	6,2	87,5
С кастрацией					
2 этап	2025	Без фитогормонов	168	0,6	100
	2025	+ фитогормоны	181	3,3	100
	Без кастрации				
	2025	Без фитогормонов	181	4,4	60
	2025	+ фитогормоны	182	4,9	75

В опытах 2024 года всего было выполнено 680 скрещиваний методом кастрации, охватывающих 24 комбинации родительских пар. В каждой комбинации скрещивания проводили на 25–35 цветках. В результате завязалось 42 боба, что составило общую завязываемость 6,2% (таблица 3). В ходе экспериментов было установлено, что завязывание бобов происходило преимущественно на фиолетово-цветковых материнских формах (К-104, К-284, 28-Б).

Наиболее продуктивной оказалась комбинация ♀ К-104 × ♂ F 98-108, в которой завязываемость составила 25%. В комбинациях ♀ К-104 × ♂ Д-10504 и ♀ 28-Б × ♂ Д 9905 завязываемость составила 5,5% и 4,8% соответственно. При этом, среди 24 комбинаций с белоцветковыми материнскими формами завязывание бобов не было зафиксировано ни в одной из них.

По итогам гибридизации 2024 года, для дальнейших экспериментов были выбраны следующие генотипы К-104, F 98-108, F 98-130 и Д-10504. Данные генотипы завязали наибольшее количество бобов, а также являлись наиболее подходящими материнскими формами для кастрации. Полевые работы проводились в период с 28 мая по 11 июня в утренние часы (05:00–08:30) при температуре 14–27 °C и относительной влажности воздуха 33–80%.

В 2025 году исследования были направлены на совершенствование техники гибридизации нута. Для достижения этой цели провели сравнительную оценку четырёх вариантов скрещиваний, основанных на двух методах – с кастрацией и без кастрации материнских цветков. В каждом методе изучали влияние фитогормональной обработки.

Результаты опытов показали, что наиболее высокая завязываемость бобов отмечалась в вариантах без кастрации материнских цветков – от 4,4 до 4,9%. В вариантах с кастрацией этот показатель находился в пределах от 0,6 до 3,3%. А также следует отметить, что наибольший успех завязываемости бобов (4,9%) наблюдался в варианте гибридизации без кастрации с последующей фитогормональной обработкой (таблица 3).

Для раздельной оценки влияния каждого из изучаемых факторов результаты четырёх вариантов были объединены в две группы. При анализе влияния способа гибридизации данные вариантов с фитогормональной обработкой и без неё объединяли в зависимости от наличия кастрации. Аналогичным образом при оценке действия фитогормонов объединяли результаты, полученные при обоих способах обработки опыленных цветков. Статистическую значимость различий определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона (таблица 4).

Таблица 4. Влияние метода гибридизации и фитогормональной обработки на завязываемость бобов нута (критерий χ^2 Пирсона)

Фактор	Вариант	n	Завязываемость, %	X^2	df	p
Метод гибридизации	С кастрацией	351	2,0	4,027	1	0,045
	Без кастрации	361	4,7			
Фитогормональная обработка	Без обработки	351	2,6	1,383	1	0,240
	С обработкой	361	4,5			

Примечание: n – количество опылённых цветков во всем опыте; χ^2 – критерий Пирсона; df – число степеней свободы; p – достигнутый уровень значимости

Объединённый анализ показал, что при проведении гибридизации без кастрации завязываемость бобов составила 4,7%, тогда как при использовании кастрации – 2,0%. Разница между вариантами достигла статистической значимости (χ^2 = 4,027; df = 1; p = 0,045). При использовании фитогормонов завязываемость бобов составила 4,5%, а без фитогормональной обработки – 2,6%. Однако, различия между вариантами статистически значимыми не являлись (χ^2 = 1,383; df = 1; p = 0,240). Поэтому полученные данные не позволяют сделать однозначный вывод о положительном влиянии фитогормональной обработки.

Молекулярная верификация гибридов

Молекулярная верификация с использованием маркеров TA96 и TA194 в 2024 году подтвердила гибридную природу у 87,5% растений F_1 (таблица 3). В экспериментах по подбору отзывчивых родительских генотипов все проверенные растения комбинаций К-104 (фиол.) × Д-10504 (бел.), 28-Б (фиол.) × Д 9905 (бел.) оказались 100% истинными гибридами (рисунок 6).

В 2025 году доля истинных гибридов составила 68,8%. Наибольшая доля истинных гибридов (75,0%) отмечена в методе без кастрации при добавлении гормональной обработки. Метод с кастрацией обеспечил 100% уровень гибридности (таблица 3). Общая доля истинных гибридов за два года составила 83,3%.

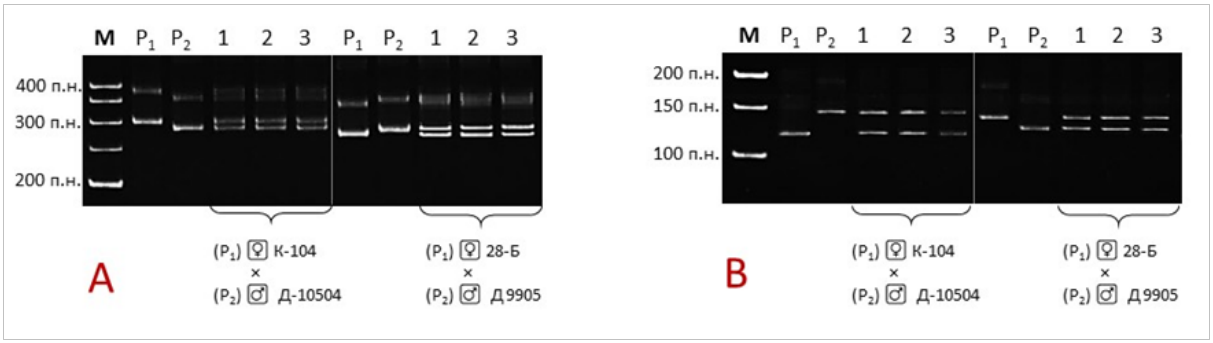


Рисунок 6. Результаты молекулярной верификации гибридов F1 с использованием STMS-маркеров TA194 (A) и TA96 (B) для комбинаций скрещиваний ♀ К-104 × ♂ Д-10504 и ♀ 28-Б × ♂ Д-9905; (Обозначения: M – ДНК-маркер молекулярных масс Step50 Plus (Биолабмикс, Россия); P1 – материнская форма; P2 – отцовская форма; 1, 2, 3 – анализируемые гибридные растения F1)

Обсуждение

Полученные в ходе эксперимента данные позволяют выделить несколько ключевых закономерностей, касающихся выбора родительских форм, методов гибридизации и роли фитогормональной обработки.

Влияние генотипа материнской формы. Отсутствие завязываемости у белоцветковых материнских форм при использовании кастрации, хотя и не являлось изначальной целью исследования, позволяет предположить, что фиолетово-цветковые формы могут быть более предпочтительными в качестве материнских при использовании метода кастрации. Однако, данный результат полностью согласуется с литературными данными и имеет чёткое физиологическое обоснование. Авторы сообщали, что использование мелкосемянной материнской формы с фиолетовыми цветками (антоциановая пигментация) повышает успех скрещивания, тогда как попытка использовать крупносемянную форму в качестве материнской снижает выживаемость скрещиваний на 70–80% [12]. Исследователи также экспериментально подтвердили, что процент завязываемости бобов значительно увеличивается, когда в качестве материнской формы используется мелкосемянный родитель [14]. При использовании мелкосемянной материнской формы завязываемость составила 43%, тогда как при использовании крупносемянной материнской формы этот показатель не превышал 8% [14].

Эффективность методов гибридизации. Более высокая завязываемость в методах без кастрации по сравнению с кастрацией подтверждает высокую чувствительность цветков нута к механическим повреждениям. Удаление пыльников травмирует ткани цветка, нарушает целостность сосудистой системы, может повреждать столбик и рыльце, что в совокупности препятствует оплодотворению. Авторы также отмечали, что кастрация не улучшает успех гибридизации и требует дополнительных временных затрат (около 10%), что делает её менее эффективной с точки зрения ресурсов [13]. В то же время наши показатели завязываемости (4,4–4,9%) ниже литературных данных (17–24%, что объясняется неблагоприятными погодными условиями юго-востока Казахстана в период проведения экспериментов [11].

Роль фитогормональной обработки. Применение смеси, содержащей NAA, кинетин и GA_3 в наших экспериментах, было направлено на комплексную поддержку репродуктивных процессов в стрессовых условиях. Согласно литературным данным, NAA (синтетический ауксин) предотвращает опадение цветков и завязей, стимулирует плодообразование и имитирует эффект опыления, индуцируя рост завязи [22, 23]. GA3 необходимы для нормального роста пыльцевых трубок и развития семян: в опытах *Singh* et al. (2002) снижение уровня гиббереллинов замедляло рост пыльцевых трубок и вызывало абортирование семян, а экзогенный GA3 частично восстанавливал эти процессы [24, 25]. Кинетин (цитокинин) стимулирует деление клеток и задерживает старение тканей [26, 27]. В наших экспериментах положительный эффект от обработки, вероятно, связан с компенсацией недостатка эндогенных фитогормонов, возникающего при высоких температурах и низкой влажности, что снижало риск абортирования

завязей. В отличие от оригинального протокола *Singh* et al. (2005), применявших трёхкратное опрыскивание плодоножки в течение трёх суток после гибридизации при межвидовых скрещиваниях, мы использовали мгновенную локальную обработку опылённых цветков, что также могло повлиять на конечные показатели [19]. Однако, следует отметить, что наблюдаемая тенденция к повышению завязываемости при фитогормональной обработке не достигла статистической значимости, что, вероятно, связано с ограниченным числом завязавшихся бобов и требует подтверждения в последующих испытаниях с большим объёмом выборки.

Молекулярная верификация и выбор стратегии гибридизации. Высокая доля истинных гибридов в 2024 году (87,5%), а также 100%-ная гибридность, подтверждённая для отобранных комбинаций (♀ К-104 × ♂ Д-10504 и ♀ 28-Б × ♂ Д-9905), свидетельствуют о корректном выполнении кастрации. В 2025 году доля истинных гибридов составила 68,8%. Снижение показателя связано с использованием метода без кастрации, при котором риск самоопыления значительно выше, так как пыльники материнского растения остаются в цветке. Однако, как показали наши результаты, именно метод без кастрации обеспечивает лучшую завязываемость (4,4–4,9%) по сравнению с методом кастрации (0,6–3,3%). А также наибольшая доля истинных гибридов (75,0%) отмечена в методе без кастрации при добавлении гормональной обработки. Метод с кастрацией обеспечил 100% уровень гибридности (таблица 3). Таким образом, перед селекционером возникает выбор – при методе без кастрации наблюдается более высокий успех завязываемости, тогда как кастрация даёт большую гарантию гибридного происхождения. Использование STMS-маркеров позволяет эффективно решать эту проблему, обеспечивая отбор истинных гибридов даже при использовании метода без кастрации.

Общая доля истинных гибридов за два года (83,3%) является высокой и свидетельствует об эффективности используемых методов гибридизации и молекулярной верификации. Этот показатель выше, чем в исследовании, где из 31 проверенного растения F1, истинными гибридами были подтверждены лишь 28,5% [17]. Авторы также отмечали, что в связи с частым самоопылением у нута идентификация истинных гибридов F1 с помощью молекулярных маркеров критически важна для создания правильных расщепляющихся популяций и ускорения селекционного процесса [17]. В то же время нами полученные результаты сопоставимы с результатами *Caballo* et al. (2018), которые сообщали о доле истинных гибридов 86–91% при использовании метода кастрации в различных селекционных программах [16].

Заключение

Проведённое в 2024–2025 г одах исследование было направлено на повышение эффективности гибридизации нута в условиях юго-востока Казахстана. На основе морфологического и молекулярного анализа 33 генотипов подтверждено высокое генетическое разнообразие коллекции, а STMS-маркеры TA96 и TA194 показали наибольшую информативность для дифференциации родительских форм.

Установлено, что завязываемость бобов при методе без кастрации была статистически значимо выше, чем при кастрации (4,7% против 2,0%). Фитогормональная обработка была ассоциирована с тенденцией к повышению завязываемости, однако различие не достигло статистической значимости и требует подтверждения на большей выборке. Даже при использовании более результативного варианта гибридизации, завязываемость не превысила значение 4,7%, что указывает на сохраняющуюся практическую проблему низкой эффективности гибридизации нута и необходимость дальнейшей методической оптимизации. А также, для достоверного подтверждения гибридной природы растений F1 необходима молекулярная верификация с использованием ДНК-маркеров.

Практическое применение: для практической селекционной работы рекомендуется использовать метод без кастрации, обеспечивающий статистически значимо более высокую завязываемость бобов, в сочетании с обязательной молекулярной верификацией гибридов. Дополнительное применение фитогормональной обработки может способствовать дальнейшему повышению завязываемости с учётом наблюдаемой тенденции, однако его эффективность требует подтверждения в последующих исследованиях. Предпочтение следует отдавать мелкосемянным фиолетово-цветковым материнским формам, а все работы проводить

в утренние часы при умеренных температурах и достаточной влажности для снижения стрессового воздействия погодных факторов.

Вклад авторов

Авторы АД, БМ: разработка методологии исследования, выполнение скрещиваний, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка и написание рукописи. КБ: обеспечение экспериментальным материалом, организация и проведение полевых исследований, выполнение скрещиваний. РЕ: окончательная редакция и вычитка рукописи. Все авторы принимали участие в обсуждении результатов исследования и одобрили окончательный вариант статьи.

Информация о финансировании

Работа была выполнена в рамках программно-целевого финансирования Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан по научно-технической программе BR22885414 «Создание высокопродуктивных сортов зернобобовых культур на основе методов современной биологии, разработка их сортовой технологии и первичного семеноводства».

Список литературы

1 Begum, N., Khan, Q.U., Liu, L.G., Li, W., Liu, D., Haq, I.U. (2023). Nutritional composition, health benefits and bio-active compounds of chickpea (*Cicer arietinum L.*). *Frontiers in Nutrition*, 10, 1218468. DOI: 10.3389/fnut.2023.1218468.

2 Thudi, M., Roorkiwal, M., Kudapa, H., Chaturvedi, S.K., Singh, N.P., Varshney, R.K. (2017). An overview of chickpea research: from discovery to delivery. *Pulse India,* 2(5), 22–25.

3 Merga, B., Haji, J. (2019). Economic importance of chickpea: Production, value, and world trade. *Cogent Food & Agriculture*, 5(1), 1615718. DOI: 10.1080/23311932.2019.1615718.

4 Summo, C., De Angelis, D., Ricciardi, L., Caponio, F., Lotti, C., Pavan, S., Pasqualone, A. (2019). Nutritional, physico-chemical and functional characterization of a global chickpea collection. *Journal of Food Composition and Analysis,* 84, 103306. DOI: 10.1016/j.jfca.2019.103306.

5 FAO. (2024). FAOSTAT Statistical Database. *Food and Agriculture Organization of the United Nations.* https://www.fao.org/faostat/en/#home

6 Zhanalieva, R.N., Bagbekov, R.K., Manglieva, Zh.Kh., Ergashheva, Sh.A. (2024). Izuchenie problem vodnykh resursov Kazakhstana i stran Tsentral'noi Azii [Studying the problems of water resources Kazakhstan and Central Asian countries]. *Journal of Advances in Engineering Technology,* 2(14), 58-65. [*In Russian*].

7 Zaman-Allah, M., Jenkinson, D.M., Vadez, V. (2011). A conservative pattern of water use, rather than deep or profuse rooting, is critical for the terminal drought tolerance of chickpea. *Journal of Experimental Botany*, 62(12), 4239–4252. DOI: 10.1093/jxb/err139.

8 Purushothaman, R., Krishnamurthy, L., Upadhyaya, H.D., Vadez, V., Varshney, R.K. (2017). Genotypic variation in soil water use and root distribution and their implications for drought tolerance in chickpea. *Functional Plant Biology*, 44(2), 235–252. DOI: 10.1071/FP16154.

9 Wood, J.A., Knights, E.J., Choct, M. (2011). Morphology of chickpea seeds (*Cicer arietinum L.*): comparison of desi and kabuli types. *International Journal of Plant Sciences*, 172(5), 632-643.

10 Genesys. (2026). *Plant Genetic Resources Gateway*. https://www.genesys-pgr.org/

11 Arora, P.P., Jeena, A.S. (2000). Hybridization method in chickpea. *Agric Sci Digest*, 20(4), 271–272.

12 Kalve, S., Tadege, M. (2017). A comprehensive technique for artificial hybridization in Chickpea (*Cicer arietinu*m). *Plant Methods*, 13(1), 52. DOI: 10.1186/s13007-017-0202-6.

13 Stefaniak, T., McPhee, K. (2017). Comparison of hybridization techniques in chickpea. *Crop Science*, 57(2), 843–846. DOI: 10.2135/cropsci2016.04.0253.

14 Anbessa, Y., Warkentin, T. (2005). On improving crossing success in chickpea. *PlantBreed*, 124, 608–609. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2005.01157.x.

15 Tullu, A., van Rheenen, H.A. (1989). Artificial cross pollination of chickpeas at Debre Zeit, Ethiopia. *Int Chick Newsl*, 2, 3–4.

16 Caballo, C., Castro, P., Gil, J., Izquierdo, I., Millan, T., Rubio, J. (2018). STMS (sequence tagged microsatellite site) molecular markers as a valuable tool to confirm controlled crosses in chickpea (*Cicer arietinum L.*) breeding programs. *Euphytica*, 214(12), 231. DOI: 10.1007/s10681-018-2314-0.

17 Surduse, B., Mohanapure, P.A., Khelurkar, V.C., Moharil, M.P., Sapkal, A.A., Jadhav, P.V., Ghorade, R.B. (2021). Molecular Characterization of chickpea genotypes and Identification of true hybrids by molecular markers. *International Journal of Agricultural and Applied Sciences*, 2(1), 41–49. DOI: 10.52804/ijaas2021.214.

18 UPOV. (2020). R*ukovodstvo po provedeniyu ispytanii na otlichimost', odnorodnost' i stabil'nost': Nut (Cicer arietinum* L.*)* (TG/143/5) [*Guidelines for conducting tests for distinctness, uniformity and stability: Chickpeas (Cicer arietinum* L.*)* (TG/143/5)]. Mezhdunarodnyi soyuz po ohrane novyh sortov rastenii, Zheneva.

19 Singh, S., Gumber, R.K., Joshi, N., Singh, K. (2005). Introgression from wild Cicer reticulatum to cultivated chickpea for productivity and disease resistance. *Plant Breeding*, 124(5), 477–480. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2005.01146.x.

20 Dellaporta, S.L., Wood, J., Hicks, J.B. (1983). A plant DNA minipreparation: version II. *Plant Molecular Biology Reporte*r, 1(4), 19-21.

21 Winter, P., Pfaff, T., Udupa, S.M., Hüttel, B., Sharma, P.C., Sahi, S., Arreguin-Espinoza, R., Weigand, F., Muehlbauer, F.J., Kahl, G. (1999). Characterization and mapping of sequence-tagged microsatellite sites in the chickpea (*Cicer arietinum L.*) genome. *Molecular and General Genetics MGG*, 262(1), 90–101. DOI: 10.1007/s004380051063.

22 Hasenstein, K.H., Zavada, M.S. (2001). Auxin modification of the incompatibility response in Theobroma cacao. *Physiologia Plantarum*, 112(1), 113–118. DOI: 10.1034/j.1399-3054.2001.1120115.x.

23 Abebie, B., Lers, A., Philosoph-Hadas, S., Goren, R., Riov, J., Meir, S. (20*08). Differential effects of NAA and 2, 4-D in reducing floret abscission in Cestrum (*Cestrum elegans) cut flowers are associated with their differential activation of Aux/IAA homologous genes. *Annals of Botany*, 101(2), 249–259. DOI: 10.1093/aob/mcm115.

24 Singh, D.P., Jermakow, A.M., Swain, S.M. (2002). Gibberellins are required for seed development and pollen tube growth in *Arabidopsis. The Plant Cell*, 14(12), 3133–3147. DOI: 10.1105/tpc.003046.

25 Swain, S.M., Singh, D.P. (2005). Tall tales from sly dwarves: novel functions of gibberellins in plant development. *Trends in Plant Science*, 10(3), 123-129.

26 Mok, D.W.S., Mok, M.C. (2001). Cytokinin metabolism and action. *Annual Review of Plant Biology*, 52(1), 89–118. DOI: 10.1146/annurev.arplant.52.1.89.

27 Kieber, J.J., Schaller, G.E. (2014). *Cytokinins*. The *Arabidopsis* Book. American Society of Plant Biologists, 12, e0168. DOI: 10.1199/tab.0168.

Морфологиялық және молекулалық маркерлерді пайдалану арқылы ноқаттың (*Cicer arietinum* L.) будандастыру техникасының тиімділігін арттыру және жетілдіру

Дженисбаева А.М., Майкотов Б.Н., Байтаракова К.Ж., Ержебаева Р.С.

«Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми-зерттеу институты» ЖШС
Алмалыбақ ауылы, Қазақстан

Түйін

Алғышарттар мен мақсат. Ноқат (*Cicer arietinum* L.) – әлемнің құрғақ және қуаң аймақтарында кеңінен өсірілетін маңызды дәнді-бұршақты дақылдардың бірі. Алайда гүлдерінің ұсақ болуы және репродуктивтік мүшелерінің механикалық зақымдануға жоғары сезімталдығы оның будандастырылуын қиындатады. Зерттеудің мақсаты морфологиялық және молекулалық маркерлерді біріктіре қолдануға негізделген кешенді тәсіл арқылы Қазақстанның оңтүстік-шығыс жағдайында ноқат будандастыруының тиімділігін арттыру болды.

Материалдар мен әдістер. 2024–2025 жылдары «Дези» және «Кабули» экотиптеріне жататын ноқаттың 33 генотиптері зерттелді. Ата-аналық формалардың генетикалық полиморфизмін бағалау үшін бес STMS-маркер (TA37, TA110, TA27, TA96 және TA194) пайдаланылды. Будандастырудың төрт әдісінің тиімділігі бұршаққаптардың байлану көрсеткіші бойынша

бағаланды, ал алынған ұрпақтың будандық табиғаты молекулалық маркерлердің көмегімен расталды.

Нәтижелер. Ата-аналық формаларды ажыратуда ең жоғары ақпараттылықты TA96 және TA194 STMS-маркерлері көрсетті, олар сәйкесінше 8 және 9 аллельді анықтады. Будандастыруды жасанды аталықсыздандыру жүргізгенде бұршаққаптардың байлану көрсеткіші 4,7%, ал кастрация қолданылғанда 2,0% болды. Әдістер арасындағы айырмашылық статистикалық тұрғыдан мәнді болды (χ^2 = 4,027; p = 0,045). Тәжірибенің жеке нұсқалары ішінде ең жоғары байлану көрсеткіші (4,9%) кастрациясыз будандастыруды GA3, NAA және кинетин фитогормондарының қоспасымен өңдеумен үйлестірген нұсқада байқалды.

Қорытынды. Ноқатты жасанды аталықсыздандыру будандастыру бұршаққаптардың жоғарырақ, бірақ практикалық тұрғыдан әлі де төмен байлануын қамтамасыз етеді, бұл әдістемені одан әрі оңтайландыру қажеттігін көрсетеді. Селекциялық тәжірибеде жасанды аталықсыздандырусыз әдісімен алынған будандарды міндетті түрде молекулалық талдаумен бірге қолдану ұсынылады, өйткені бұл әдісте нағыз будандардың үлесі жасанды аталықсыздандыру қолданылған әдіске қарағанда төмен.

Кілт сөздер: ноқат; будандастыру әдісі; молекулалық маркер; морфологиялық маркер; STMS-маркер.

Efficiency enhancement and technique refinement in chickpea (*Cicer arietinum* L.) hybridization using morphological and molecular markers

Assel M. Jenisbayeva, Bekzhan N. Maikotov, Kuralay Zh. Baitarakova, Raushan S. Yerzhebayeva

LLP «Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing», Almalybak, Kazakhstan

Abstract

Background and Aim. Chickpea (*Cicer arietinum* L.) is one of the most important legume crops cultivated in arid regions worldwide; however, its hybridization is complicated due to the small size of its flowers and high sensitivity of reproductive organs to mechanical damage. The aim of the study was to enhance the efficiency of chickpea hybridization under the conditions of southeastern Kazakhstan through an integrated approach combining morphological and molecular markers.

Materials and Methods. Thirty-three chickpea genotypes of the “Desi” and “Kabuli” ecotypes were studied in 2024–2025. Five STMS markers (TA37, TA110, TA27, TA96, and TA194) were used to assess the genetic polymorphism of the parental genotypes. The efficiency of four hybridization methods was evaluated based on pod set, while the hybrid origin of the progeny was confirmed using molecular markers.

Results. STMS markers TA96 and TA194 were the most informative for differentiating the parental genotypes, detecting eight and nine alleles, respectively. The pod-set rate was 4.7% in crosses performed without emasculation and 2.0% in crosses performed with emasculation. The difference between the two methods was statistically significant (χ^2 = 4.027; p = 0.045). Among the individual experimental treatments, the highest pod-set rate (4.9%) was observed when crossing without emasculation was combined with treatment with a mixture of the phytohormones GA3, NAA, and kinetin.

Conclusion. Chickpea hybridization without emasculation resulted in a higher pod-set percentage, although the rate remained low in practical terms, indicating the need for further methodological optimization. For breeding purposes, the non-emasculation method should be combined with mandatory molecular verification of hybrids because the proportion of true hybrids obtained using this method is lower than that obtained with emasculation.

Keywords: chickpea; hybridization method; molecular marker; morphological marker; STMS marker.