

**Наименование проекта:** AP14870014 «Применение ДНК-технологий в селекционно-генетических исследованиях культуры проса при создании новых отечественных засухоустойчивых сортов».

**Актуальность:** Растение просо (*Panicum miliaceum* L.) является ценной крупяной и кормовой культурой в мире. В настоящее время просо выращивают в основном в Восточной и Центральной Азии и в меньшей степени в Восточной Европе и от Западной Азии до Пакистана и Индии (Kate S.M.et.al, 2018). По данным, организации по сельскому хозяйству ФАО в мире посевная площадь проса занимает 6-е место по посевным площадям (34,7 млн га) и валовым сборам зерна (31,6 млн т) среди зерновых культур, уступает только пшенице, рису, ячменю, кукурузе и сорго (Zotikov V.I. et.al, , 2012).

В Государственный реестр селекционных достижений МСХ РК внесен 21 сорт проса на зерно и 13 на корм. Значительная часть новых сортов принадлежит селекции Актюбинской СХОС, в ТОО «НПЦ зернового хозяйства им. А.И.Бараева» создано три сорта пищевого и кормового направления, в Павлодарском НИИСХ создано 2 сорта и Восточно-Казахстанский НИИСХ 1 сорт. Сорта проса начали поступать в Госсортосеть с 1930 года. Начиная с 1937 года селекция проса возобновилась в основных прососеющих регионах, в том числе в Актюбинской области. Примером применения народной селекции, основанной на тщательном многократном индивидуальном отборе, являются работы всемирно известного актюбинского просовода Шыганак Берсиева, установившего в течение 1937-1944 годов несколько мировых достижений в выращивании проса на орошении. Выдающимся достижением Берсиева является получение в 1943 году рекордного урожая проса в 201 ц/га (Цыганков И.Г. и др., 2004). Большинство сортов проса было создано с помощью классических методов селекции. Практически невозможно добиться сочетания в одном генотипе многих желаемых ценных признаков используя, только методы классической селекции из-за отрицательных генетических корреляций (Сокурова Л.Х., 2014). Селекция с помощью молекулярных маркеров, marker-assisted selection, MAS - это комплексный инновационный подход, включающий как традиционные генетические, так и молекулярные. Традиционные методы идентификации сортов основаны на морфологических признаках. Количество таких признаков ограничено, в то время как количество сортов исчисляется десятками тысяч. Благодаря прогрессу исследования молекулярной организации и изменчивости генома разработаны маркерные технологии, способствующие значительному повышению эффективности и ускорению процесса создания новых сортов (Сюволап Ю.М., 2013). Принимая во внимание тот факт, что в системе государственного сортоиспытания и в производстве имеется ограниченный сортимент культуры проса, создание новых засухоустойчивых сортов к условиям сухостепных зон Казахстана является актуальной задачей для селекционеров.

#### **Цель:**

Комплексное изучение генофонда проса с применением ДНК-маркерного анализа, отбор исходного материала в селекционном процессе и создание нового отечественного засухоустойчивого сорта для степных и сухостепных зон Казахстана.

#### **Ожидаемые и достигнутые результаты:**

- будет оценена эффективность использования микросателлитных SSR и ISSR маркеров для анализа генетического полиморфизма;
- будет проведен расчет генетического расстояния и кластеризация коллекции для выявления гетерогенности генотипов;
- будут выделены перспективные образцы, содержащие высокоэффективные и хозяйственно-ценные гены;
- будут заложены коллекционные и селекционные питомники в условиях сухостепной зоны Казахстана и отобраны высокопродуктивные и засухоустойчивые генотипы;
- будет передан новый отечественный конкурентоспособный засухоустойчивый сорт проса в Государственное сортоиспытание по регионам РК совместной селекции КазАТУ и

АСХОС и подана заявка в НИИС МЮ РК на получение патента РК на новое селекционное достижение.

В ходе реализации будет проведена закладка демонстрационных площадок (участков) на селекционных участках НИ-оригинатора ТОО «Актюбинская СХОС», а также ряда бенефициаров проекта ТОО «Ди Лэнд» (Каргалинский р-н, Актюбинской обл.). На данных участках (площадках) планируется разместить ряд перспективных сортов и константных линий проса отечественной селекции с целью демонстрации, имеющегося сортового потенциала и элементов их сортовой агротехники в условиях сухостепных зон РК.

По итогам реализации научного проекта будут опубликованы 3 (три) статьи и (или) обзоров в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в Science Citation Index Expanded базы Web of Science и (или) имеющих процентиль по CiteScore в базе Scopus не менее 50 (пятидесяти).

В настоящее время по данному направлению активно ведутся исследовательские работы двух PhD докторантов кафедры. В достаточном количестве накоплен исходный материал для проведения селекционно-генетических работ. На сегодняшний день коллекция насчитывает около 200 образцов различного эколого-географического происхождения: Афганистан, Бельгия, Венгрия, КНР, Канада, Индия, Иран, Мексика, Пакистан, РФ, США, Турция, Украина, Франция. Генофонд зарубежной и отечественной коллекции были испытаны в полевых условиях Северного и Западного Казахстана. Исследования по данной культуре проходили в разных направлениях, изучались биохимические, физиологические и ценно-хозяйственные признаки, которые позволили оценить исходный материал комплексно, использование различных географических широт позволяет использовать полученные результаты не локально, а в целом по Казахстану. Получены новые гибридные материалы различных поколении методом традиционной селекции и мутагенеза. По результатам исследований опубликованы статьи в зарубежных журналах с высоким процентилем. Предлагаемый проект позволит продолжить селекционно-генетические исследования с применением инновационных методов на молекулярном уровне и пополнить отечественную коллекцию новыми сортами, отвечающего требованиям крупной промышленности.

**Члены исследовательской группы:**  
**руководитель проекта – Рысбекова Айман Бокеновна**  
**исследовательская группа:**

№ п/п	Ф.И.О. (при его наличии), образование, степень, ученое звание	Основное место работы, должность	Индекс Хирша, идентификаторы Researcher ID, ORCID, Scopus Author ID (при наличии)
1	Рысбекова А.Б., кандидат биологических наук, ассоциированный профессор	КазАТУ им. С.Сейфуллина, ассоциированный профессор кафедры земледелия и растениеводства	Индекс Хирша-2, ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0003-3716-7843">0000-0003-3716-7843</a> , Scopus Author ID <a href="https://scopus.com/authid/detail/authid?cid=57193387371">57193387371</a> ;
2	Цыганков В.И., кандидат сельскохозяйственных наук	Актюбинская СХОС, Ведущий научный сотрудник	Индекс Хирша-4, ORCID 0000-0002-3652-3888; Scopus Author ID 572 212 898-46
3	Жирнова И.А., магистр сельскохозяйственных наук	КазАТУ им. С.Сейфуллина, PhD докторант кафедры земледелия и	Индекс Хирша-1, ORCID 0000-0003-1716-8793; Scopus Author ID <a href="https://scopus.com/authid/detail/authid?cid=571203111547">571203111547</a> ;

		растениеводства	
4	Дюсибаева Э.Н., PhD доктор	КазАТУ им. С.Сейфуллина, ассоциированный профессор кафедры земледелия и растениеводства	Индекс Хирша-1, ORCID <a href="https://orcid.org/0000-0002-5960-6328">0000-0002-5960-6328</a> , Scopus Author ID <a href="https://scopus.org/authorid/57195609258">57195609258</a> ;
5	Зейнуллина А.Е., магистр сельскохозяйственных наук	КазАТУ им. С.Сейфуллина, докторант кафедры земледелия и растениеводства	ORCID 0000-0001-6880-0969; Scopus Author ID 57208920657;
6	Джикия Л.А., магистр сельскохозяйственных наук	КазАТУ им. С.Сейфуллина, старший лаборант кафедры земледелия и растениеводства	ORCID 0000-0002-5197-6359;
7	Есенбекова Г.Т., PhD доктор	КазАТУ им. С.Сейфуллина, старший преподаватель кафедры защиты растений и карантина	Индекс Хирша-1 ORCID 0000-0002-5747-8860; Scopus Author ID: 57210697811
8	Зотова Л.П., PhD доктор	КазАТУ им. С.Сейфуллина, старший преподаватель кафедры земледелия и растениеводства	Индекс Хирша-5 ORCID 0000-0001-8610-2689; Scopus Author ID: 57197867176; Researcher ID Web of Science AAE-9553-2022
9	Цыганков А.В. Бакалавр сельского хозяйства	Актюбинская СХОС, научный сотрудник	ORCID-ID 0000-0002-1782-962X

### Основные результаты за 2022 год:

Произведена закладка коллекционного питомника и питомника размножения линий проса в условиях Акмолинской и Западно-Казахстанской областей. Коллекционный питомник составил 120 образцов различного эколого-географического происхождения и питомник размножения 4 линий, полученных в результате индивидуального отбора. Начало фазы всходов у растений проса в условиях Западно-Казахстанской области отмечено на 5-6-е сутки, полные всходы – на 8-9-е сутки. Полевая всхожесть у большинства сортифта проса в питомниках составила 70-80%; у ряда образцов она находилась в диапазоне 55-65%. В условиях Акмолинской области в связи с отсутствием осадков в период посева всходы были получены на 12-14-е сутки, полные всходы на 16-18-е сутки, полевая всхожесть была на уровне 70-75 %, у некоторых образцов была на уровне 50-55 %. Оценка линий по всем хозяйственно-ценным признакам показала, что наиболее перспективной в сравнении со стандарт-сортом данного региона Памяти Берсиева оказалась линия Линия Р-1553, по всем показателям данная линия превзошла остальные линии, включая оценку фенотип балла. Данная линия выделилась по обоим регионам. Засухоустойчивость сортов была проведена согласно балльной системе в обоих регионах. Линия Р-1553 показала высокие результаты 4,4 и 4,2 балла, низкими баллами были оценены Линия С-8/82 и Линия С-12/82 соответственно 3,5 и 3,8 баллов. Урожайность линии Р-1553 в условиях Западно-Казахстанской области была 318 г/м<sup>2</sup>, что выше показателя сорта стандарта на 38 г/м<sup>2</sup>,

изучение линии в Акмолинской области также показало увеличение урожайности в сравнении со стандартом данного региона Саратовское 6, так урожайность линии была 302 г/м<sup>2</sup>, что выше сорта стандарта на 64 г/м<sup>2</sup>.

Для оценки внутрисортного полиморфизма мирового и отечественного генофондов проса, представленной 120 образцами различного происхождения проведена экстракция ДНК модифицированным методом СТАВ. Подобраны 20 SSR маркеров: SSR-67; SSR-70; SSR-71; SSR-82; SSR-85; SSR-86; SSR-92; SSR-100; SSR-109; SSR-120; SSR-121; SSR-127; SSR-128; SSR-129; SSR-131; SSR-142; SSR-143; SSR-144; SSR-146; SSR-182. Проведена оптимизация ПЦП условий для перечисленных ДНК-маркеров. При ПЦП анализе с использованием SSR-131 маркера не обнаружен внутрисортной полиморфизм, амплифицирован продукт ПЦП размером 349 пар нуклеотид (п.н.) во всех образцах. По маркерам SSR-142 и SSR-143 выявлен полиморфизм. При использовании SSR-142 у большинства образцов (~90%) амплифицировался бэнд размером 124 п.н., за исключением некоторых образцов, которые имели ПЦП продукт размером 118 п.н.. Использование маркера SSR-143 позволило визуализировать наличие ПЦП продукта размером 144 п.н. и 160 п.н. По маркерам SSR-144 и SSR-146 в исследуемых образцах выявлены по 2 ампликона, около 450 п.н. и 200 п.н. для SSR-144 маркера, 200 п.н. и 95 п.н. для SSR-146 маркера.

#### **Основные результаты за 2023 год:**

Для выявления внутрисортного полиморфизма ДНК коллекции проса был произведен выбор информативных ISSR-праймеров в соответствии со шкалой эффективности праймеров. Для каждого маркера проведена оптимизация ПЦП условий. Каждый ISSR маркер индивидуально был анализирован в ПЦП реакции ISSR-методом с геномной ДНК. Всего было протестировано 16 ISSR-праймеров: ISSR 807, ISSR 808, ISSR 809, ISSR 810, ISSR 811, ISSR 816, ISSR 817, ISSR 819, ISSR 820, ISSR 822, ISSR 823, ISSR 824, ISSR 826, ISSR 834, ISSR 835 и ISSR 840. Протестированные 16 ISSR-праймеры содержали последовательности ди-, три- и полинуклеотидных микросателлитных мотивов. Из 16 ISSR маркеров 5 показали высокую эффективность, так как выявили наибольшее число четко амплифицирующихся фрагментов ДНК, остальные маркеры обнаружили среднюю или невысокую эффективность.

Для оценки генетической дифференциации генофонда на основе данных SSR скоринга были проведены расчеты числа различных аллелей (Na), числа эффективных аллелей (Ne), информационного индекса Шеннона (I), ожидаемой гетерозиготности (He), несмещенной ожидаемой гетерозиготности (uHe), содержания полиморфной информации (значение PIC) с помощью компьютерных программ GenAlEx6.5 для MS-Excel. Из 20 SSR маркеров у 9 обнаружен полиморфизм SSR 67, SSR 82, SSR 85, SSR 86, SSR 92, SSR 100, SSR 109, SSR 142 и SSR 146, остальные 11 были мономорфными. Среди сортообразцов проса, разделенных на 6 групп по происхождению, 20 пар праймеров SSR позволили идентифицировать в общей сложности 47 аллелей, в среднем 2,35 аллели на маркер. Анализ генетического разнообразия показал, что среднее число различных аллелей (Na) на locus SSR варьировало от 1,77 до 3,66 для которых не было получено уникальных аллелей. Из 9 SSR маркеров четыре показали высокие значения PIC, SSR 67 (0,536), SSR-82 (0,756), SSR-85 (0,795) и SSR-109 (0,758), что указывает на превышение критического значения 0,5. Маркеры SSR 85 и SSR 86 показали значительную связь с дисперсией признака продуктивная кустистость, р-значение составило 0,013 и 0,008 соответственно. Маркер SSR-85 также был связан со средней урожайностью зерна, при  $p < 0,05$ .

В текущем 2023 году полевые опыты коллекционного питомника заложены в условиях Акмолинской и Актюбинской областей. В ходе исследования мировой коллекции проса, среди которых имеются зарубежные 61 сортообразцов и 29 местных сортов проса, фиксировалась фенотипическая изменчивость между двумя регионами включая наиболее важных семи признаков. В результате учетов было выявлено, что в почвенно-климатических условиях НПЦЗХ им.А.И. Бараева (Акмолинская область) среднее значение высоты растений колебалось в пределах 63,1-95,6 см. В условиях АСХОС (Актюбинская

область) данный показатель изменчивостью не выделился и варьировался от 67,4 до 99,2 см. Наиболее существенное отличие растений к условиям произрастания имели признаки: количество и масса зерновок с главной метелки. Наблюдения на опытных участках показали, что было колебание количества зерен в метелке в условиях НПЦЗХ им.А.И. Бараева в среднем  $460 \pm 10,9$  шт, а в западном регионе  $706 \pm 16,6$  шт., а по массе семян с метелки:  $2,6 \pm 0,09$  и  $2,55 \pm 0,08$ , соответственно. Продуктивная кустистость по среднему значению составила 1,0-1,5 шт/1 раст. в условиях Акмолинской области, напротив, в условиях Актыбинской области наблюдалось значительное колебание по данному признаку: 0,8-3,8 шт/1 раст, соответственно.

Полученные полевые данные показывают, что выращенные в различных регионах Казахстана и сформировавшихся в контрастных почвенно-климатических условиях, не отличается по своим урожайным свойствам, таким как масса семян с метелки и масса 1000 семян. Средние показатели, влияющие на продуктивность у генотипов проса в условиях НПЦЗХ им.А.И. Бараева по массе 1000 семян составил - 5,7 г., в АСХОС - 6,45 г, соответственно. Оценка среднего значение урожайности зерна сортообразцов проса выявила, что урожай северного региона ( $225-1248$  г/м<sup>2</sup>) продемонстрировал почти в два раза выше, чем в западном региона страны ( $49,0-668,0$  г/м<sup>2</sup>). По двум регионам разница в продуктивности составила 209 г/м<sup>2</sup>. В результате изучения продуктивности семян растений проса на каждый квадратный метр дал возможность выделить наиболее урожайные генотипы, такие как: Саратовское 3 ( $608,5$  г/м<sup>2</sup>), PI 209790 ( $635,3$  г/м<sup>2</sup>), К – 2241 ( $636,0$  г/м<sup>2</sup>), Шортандинское 7 ( $713$  г/м<sup>2</sup>), PI 177481 ( $720,3$  г/м<sup>2</sup>), PI 211058 ( $738,5$  г/м<sup>2</sup>), К-2468 ( $1206,2$  г/м<sup>2</sup>), которые сумели дать стабильный урожай вне зависимости от климатических условий сложившихся в год исследований. По вегетационному периоду коллекцию можно разделить на три группы: более скороспелые (67-70 сутки); занимающих промежуточное положение (71-99); позднеспелые формы (100 и более). В текущем году у трех образцов вегетационный период был меньше по сравнению от стандарта, что составляет 3.3 %, соответственно. В Актыбинской области у 18 сортов отечественной коллекции вегетационный период был короче на 20% от местного стандарта Памяти Берсиева. Проведенные исследования в этом регионе показали, что 27 генотипов зарубежной коллекции были короче местного стандарта «Памяти Берсиева». По результатам фенологических наблюдений в условиях НПЦЗХ им.А.И. Бараева вегетационный период в среднем составил  $90,4 \pm 2,1$  дней. В условиях АСХОС был значительно короче на 13,8 дней и в среднем составил  $75,8 \pm 2,3$  дней.

Таким образом, полевые испытания коллекции проса проведены в условиях Актыбинской и Акмолинской областях. В результате исследований проведена оценка исходного материала проса по ценно-хозяйственным признакам и выделены источники, обладающие высокими показателями роста, развития и устойчивости к стресс-факторам. По результатам структурного анализа отобраны перспективные константные линии в условиях сухостепных зон Казахстана. Оптимизирован ПЦР режим для ISSR маркеров и установлен полиморфизм ДНК гермоплазмы проса. Применение t-теста показало, что SSR 85 и SSR 86 были связаны с агрономическими признаками, такими как продуктивная кустистость (шт.) и урожайность зерна (г/м<sup>2</sup>). Полученные результаты могут быть использованы в селекционном процессе для улучшения продуктивности проса.

**Список публикаций и патентов опубликованные в рамках данного проекта: (со ссылками на них):**

В рамках данного проекта были опубликованы 3 статьи в отечественном издании, рекомендованном КОКШВО и 5 статьи в международных конференциях.

-в издании, рекомендованном КОКШВО:

1 Зейнуллина А.Е., Рысбекова А.Б., Дюсибаева Э.Н., Жирнова И.А., Цыганков В.И., Цыганков А.В. Активность фотосинтетических пигментов растений проса под воздействием азидата натрия // Вестник Кызылординского университета имени Коркыт Ата №1 (64), 2023. С.144-154. <https://doi.org/10.52081/bkaku.2023.v64.i1.014>.

2 Зейнуллина А.Е., Рысбекова А.Б., Дюсибаева Э.Н., Жирнова И.А., Цыганков В.И., Цыганков А.В. Натрий азидтің мутаген ретінде тары (*Panicum miliaceum* L.) генотиптерінің шаруашылық құнды белгілеріне әсері // Вестник Кызылординского университета имени Коркыт Ата, №3-1 (66), 2023. <https://doi.org/10.52081/bkaku.2023.v66.i3.065>.

3 Зейнуллина А.Е., Рысбекова А.Б., Дюсибаева Э.Н., Жирнова И.А., Есенбекова Г.Т., Мухина Ж.М. Эффект колхицина на структурные показатели растений проса посевного (*Panicum miliaceum* L.) в поколении М<sub>1</sub> // Вестник науки Казахского агротехнического исследовательского университета им. С. Сейфуллина (междисциплинарный), 2023. -№ 3(118). - С.235-249. – ISSN 2710-3757, ISSN 2079-939X. [doi.org/ 10.51452/kazatu.2023.3\(118\).1447](https://doi.org/10.51452/kazatu.2023.3(118).1447)

-в международных конференциях:

1 Zeinullina Aiyam, Rysbekova Aiman Mutagenic effect of colchicine on photosynthetic pigments of two proso millet genotypes / International Conference “Scientific research of the SCO countries: synergy and integration” July 12, 2023. Beijing, PRC. P.144-150.

2 Zeinullina A.Y., Rysbekova A.B., Dyusibaeva E.N., Zhirnova I.A. Mutagenic effect of colchicine on photosynthetic pigments of proso millet M2 generation / Proceedings of the XXIX International Scientific and Practical Conference. Warsaw, Poland. 2023. P. 9-13.

3 Zhirnova I., Rysbekova A., Kurishbayev A., Dyusibaeva E., Zeinullina A. Evaluation of the initial millet material for breeding / Proceedings of the XXIX International Scientific and Practical Conference. Warsaw, Poland. 2023. P. 14-17.

4 Zeinullina Aiyam, Rysbekova Aiman, Dyusibaeva Elmira, Zhirnova Irina Influence of colchicine on seeds germination and coleoptile length of proso millet genotypes / V International Scientific and Practical Conference “World science priorities”, August 10 – 11, 2023, Vienna. Austria. P.5-10.

5 Zhirnova Irina, Rysbekova Aiman, Dyussibayeva Elmira, Zeinullina Aiyam, Dolinny Yuri Inheritance of the quantitative characteristics of millet hybrids / X International Scientific and Practical Conference «Challenges and problems of modern science», October 19 – 10, 2023, London, United Kingdom. P.9-14.