

## **Әнуарбек Шынар Нұрланқызының**

«6D070100-Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (Ph.D.) дәрежесін алу үшін дайындалған «Ассоциацияларды толық геномдық зерттеу әдістемесі негізінде қатты бидайдың (*Triticum durum* Desf.) өнімділігінің компоненттеріне байланысты сандық белгілер локустарын анықтау» тақырыбындағы диссертациясына

### **АНДАТПА**

**Жұмыстың жалпы сипаттамасы.** Жұмыс ассоциацияларды толық геномдық іздеу әдістемесін қолдана отырып, қатты бидайдың (*Triticum durum* Desf.) өнімділік компоненттерінің сандық белгілерінің локустарын анықтауға арналған.

**Тақырыптың өзектілігі.** Қатты бидай (*Triticum durum* Desf.) - әлемдегі және Қазақстандағы ең маңызды дәнді дақылдардың бірі (ФАО, 2019). Стратегиялық және экспорттық астық дақылдары болып табылатын жоғары сапалы бидай өндірісінің тұрақты өсуі бүкіл әлемде де, ел ішінде де азық-түлік қауіпсіздігін қамтамасыз етудің маңызды бағыттарының бірі болып табылады (КазакЗерно, 2019). Заманауи білімді тарату және генетика мен селекцияда жаңа технологияларды пайдалану ғылыми зерттеулердің нәтижелерін қолданбалы ғылымға енгізудің маңызды факторы болып табылады. Селекцияға молекулалық-генетикалық технологияларды енгізудің әлемдік тәжірибесі Қазақстан үшін оң үлгі болып табылады, бұл жоғары өнімді және сапалы сорттарды жасау үшін селекциялық процесті едәуір жеделдетуге және жаңғыртуға мүмкіндік береді. Осыған байланысты Қазақстанның қатты бидайының генетикалық ресурстарын және шетелдік коллекцияны селекцияның дәстүрлі әдістерін, сондай-ақ молекулалық генетиканың, геномиканың және маркер-жанама селекцияның қазіргі заманғы әдістемелерін пайдалана отырып зерттеу аса өзекті болып табылады.

**Зерттеу нысаны:** Қатты бидайдың (*Triticum durum* Desf.) 300 сорты мен линиялары.

**Зерттеу пәні.** Қатты бидайдың бейімделгіштігі мен өнімділігінің шаруашылық-құнды белгілерімен байланысты SNP-маркерлерін қолдануға негізделген «маркер-белгі» ассоциациясын талдау.

**Зерттеу мақсаты.** Зерттелетін коллекцияны толық геномды генотиптеу және гендерді ассоциативті карталау әдісіне негізделген фенотиптік деректерді қолдана отырып, қатты бидайдың (*Triticum durum* Desf.) бейімделгіштігі мен өнімділік компоненттерімен байланысты сандық белгілер локустарын (QTL, *quantitative trait loci*) анықтау.

#### **Зерттеу міндеттері:**

1. Қазақстанның екі аймағында 300 отандық және шетелдік сорттар мен линиялардан тұратын қатты бидай коллекциясын фенотиптік зерттеу.

2. SSR- және SNP-маркерлерін қолдану негізінде қатты бидай коллекцияларының генетикалық алуантүрлілігін бағалау.

3. Гендерді ассоциативті карталау әдісін қолдану негізінде қатты бидайдың шаруашылық-құнды белгілерінің QTL анықтау.

4. Қатты бидайдың бейімделгіштігі және өнімділігі белгілерімен байланысты KASP-маркерлерінің тиімділігін әзірлеу және талдау.

**Зерттеу әдістері.** Агротехнологиялық жұмыстар ҚР АШМ Солтүстік Қазақстан АШТС (СК АШТС) және ҚазЕжӨШҒЗИ (Алматы облысы) кешенді зерттеулер шеңберінде жүргізілді. Келесі фенологиялық фазалар (күндер саны 50% пайда болғаннан бастап) бағаланды: егіннің шығысы, төрт жапырақ фазасы, түптену, сабақтың ұзару фазасы, флогальды жапырағының пайда болуы, сабақтану, масақтану, гүлдеу, пісіп-жетілуі. Қатты бидай коллекциясының үлгілері келесідей көрсеткіштер бойынша талданды: өсімдік биіктігі (см), жоғарғы буынаралықтарының ұзындығы (см), өсімдіктегі өнімді масақтардың саны (дана), басты масақтың ұзындығы (см), басты масақтағы дәндердің саны (дана), басты масақ дәндерінің массасы (г), өсімдіктен алынған дәндер массасы (г), 1000 дән массасы (г), өнімділік (г/м<sup>2</sup>). Генотиптеу үшін SSR, SNP және KASP (*KBiosciences competitive allele specific PCR*) маркерлері, ДНҚ бөлу, полимеразды тізбекті реакция (ПТР), полиакриламидті геледегі (ПААГ) электрофорез әдістері пайдаланылды. QTL іздеу гендерді ассоциативті карталау (GWAS) әдісін қолдану негізінде жүзеге асырылды. Алынған деректерді статистикалық өңдеу үшін GenStat, GraphPad, GenAlEx, TASSEL 5.0, STRUCTURE 2.3.4, GAPIT R 6.5 бағдарламалық пакеттер пайдаланылды.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы** Қазақстанда селекциялық зерттеулердің тиімділігін арттыруға бағытталған заманауи геномдық технологияларды пайдалану негізінде қатты бидайдың бейімділігі мен өнімділік компоненттерімен байланысты жаңа ақпараттық ДНҚ-маркерлерін анықтау болып табылады. Алғаш рет ассоциацияларды толық геномдық талдау (АТГТ немесе GWAS – genome-wide association study) негізінде Қазақстанның оңтүстік-шығысы мен солтүстігі жағдайларында қатты бидайдың өнімділігімен байланысты QTL анықталды. Бұрын қатты бидай зерттеулерінде кездеспеген 32 QTL, олардың ішінде бейімделу белгілерінің 8 локусы (масақтану уақыты, өсімдік биіктігі) және өнімділік компоненттерінің 24 локусы (масақ ұзындығы, өнімді масақтар саны, 1000 дән массасы) анықталды. GWAS нәтижелері негізінде, Қазақстанның оңтүстік-шығысы мен солтүстігі жағдайында қатты бидай өнімділігі компоненттерін бақылайтын KASP-маркерлер әзірленді.

**Зерттеудің практикалық маңыздылығы** жаңа геномдық технологияларды пайдалану негізінде қатты бидайдың өнімділігін арттыру бойынша отандық селекциялық бағдарламалардың күшеюімен байланысты. Атап айтқанда, елдің селекциялық ұйымдары үшін құнды селекциялық материалды іріктеудің алғашқы кезеңдерінде қатты бидай сорттарының өнімділігі мен линияларының мүмкіндігін жедел талдау үшін жаңа ақпараттық ДНҚ-маркерлер ұсынылды. Қатты бидайдың 23 перспективалы сорттары мен линиялары анықталды. Бидайдың бейімделу және өнімділік көрсеткіштерімен байланысты SSR және KASP ДНҚ-маркерлерінің екі класын пайдалана отырып, Қазақстанның қатты бидайының коммерциялық сұрыптары мен перспективалы линияларының паспорттары жасалды.

**Теориялық маңыздылығы** зерттеу Қазақстан жағдайында қатты бидайдың өнімділігін арттырумен байланысты QTL анықтаудан тұрады. Отандық және шетелдік әдебиеттерді талдау көрсеткендей, Қазақстанда қатты бидайдың генетикасын зерттеу және GWAS бойынша молекулалық-генетикалық деңгейде әлі де осындай жұмыстар жүргізілмеген. Негізгі перспектива – қатты бидай өсіру процесінің тиімділігін жоғарылату үшін жаңа стратегияларды әзірлеудің маңызды платформасын дайындауда, оның ішінде маркерлерге негізделген селекцияда жаңа бәсекеге қабілетті сорттарды құруға бағытталған.

### **Қорғауға ұсынылған диссертацияның негізгі жағдайы:**

1. Қазақстанның солтүстік және оңтүстік-шығыс аймақтарында экологиялық сынақтан өткен, бейімделгіштік пен өнімділігі бойынша сұрыпталған қатты бидайдың дүниежүзілік коллекциясының сорттары мен линиялары Қазақстандағы селекциялық бағдарламалардың құнды көздері болып табылады.

2. Екі өсу аймағы жағдайында – Қазақстанның солтүстік және оңтүстік-шығыс астық егістік аймақтарында, 16425 SNP- маркерлері арқылы ассоциацияларды толық геномдық талдау (GWAS) нәтижесінде анықталған 59 сандық белгі локустары (QTL) қатты бидайдың бейімделгіштігі мен өнімділігінің 5 маңызды көрсеткішімен (масақтану уақыты, өсімдік биіктігі, масақ ұзындығы, өнімді масақ саны, 1000 дән салмағы) байланысты.

3. Анықталған QTL арасында Қазақстандағы қатты бидайдың шаруашылық - құнды белгілерімен статистикалық сенімді байланысқан 32 locus шамамен жаңа болып табылады.

4. SSR және SNP маркерлері бойынша Қазақстандағы қатты бидайдың перспективті сорттары мен линияларының генетикалық паспорттары бағалы генотиптерді анықтау үшін және қатты бидайдың маркер-жанама селекциясында пайдаланылуға болады.

5. Қатты бидайдың (*T. durum* Desf.) селекциялық-құнды линияларын анықтау тәсілі ретінде шаруашылық-құнды белгілермен байланысты KASP-маркерлер жиынтығы құрылды.

### **Зерттеудің негізгі нәтижелері мен тұжырымдары:**

1. 300 үлгіден тұратын қатты бидайдың әлемдік коллекциясы алғаш рет 2018-2020 жылдары Қазақстанның солтүстік және оңтүстік-шығыс далалық жағдайында зерттелді. Солтүстік Қазақстанда «шаршы метрдегі өнімділік» (г/м<sup>2</sup>) бойынша үш жылдық егістік сынақтарының орташа көрсеткіштері отандық «Дамсинская янтарная» стандартты сортының өнімділік көрсеткіштерінен асып түскен әлемдік коллекцияның 52 үлгісін анықтауға мүмкіндік берді, бұл Қазақстандағы селекциялық зерттеулер үшін қатты бидайдың шетелдік үлгілерінің жоғары құндылығын көрсетеді.

2. Фенотиптік талдауға және «генотип x орта» (GGE) талдауына сәйкес Алматы облысында (сорт-стандарт деңгейінде немесе одан жоғары) неғұрлым перспективалы сорттар Aghrass-1, Aizen-1, Appio, Appulo, Berillo, Bronte, Cosmodur, Granizo, Lesina, Pedroso, Quadrato, Strongfield, Trinakria, Алтайка, Алтайский янтарь, Харьковская 46 сорттары болып табылды. Солтүстік

Қазақстан облысы үшін неғұрлым перспективалы (сорт-стандарт деңгейінде немесе одан жоғары) сорттар ретінде: AC Navigator, Cappelli, Lloyd, Tiziana, Г2611, Г2638, Кустанайская 1 сорттары бөлінді.

3. Өсімдіктің биіктігі мен жоғарғы буынаралықтарының ұзындығы арасында оң корреляция анықталды ( $r = 0,9^{***}$  (ҚазЕжӨШҒЗИ);  $r = 0,8^{***}$  (Солтүстік-Қазақстан АШТС)); өнімді масақтар саны және бір өсімдіктегі дәндер массасы ( $r = 0,7^{***}$  (ҚазЕжӨШҒЗИ);  $r = 0,6^{***}$  (Солтүстік-Қазақстан АШТС)); бір масақтағы дән саны және бір өсімдіктегі дән массасы ( $r = 0,5^{***}$  екі облыстың мәліметтері бойынша).

4. Үш жылдық далалық мәліметтерге негізделген дисперсиялық талдау (ANOVA) «қоршаған орта» факторының «масақтану уақыты», «гүлдеу уақыты», «негізгі масақтағы дәндер саны» және «өнімділік» белгілерінің жалпы дисперсиясына қосқан үлесі статистикалық тұрғыдан «генотип» факторының үлесінен асып түскенін анықтауға мүмкіндік берді, бұл қоршаған ортаның осы белгілердің өзгеруіне әсерін ескерудің маңыздылығын көрсетеді.

5. Қазақстан, Ресей және Украинаның жаздық қатты бидайының 29 сортынан (оның ішінде ҚР Мемлекеттік реестріне енгізілген) және Қарабалық АШТС селекциясының КСИ 15 үлгісінен тұратын коллекция 9 SSR-маркерлерді қолданумен сипатталды. 9 SSR-маркерлер бойынша қатты бидай сорттары мен перспективалы линияларының генетикалық паспорттары жасалды, оны будандастыру, жұптарды іріктеу, маркерлік селекцияда, селекционерлердің құқықтарын қорғау үшін пайдалануға болады.

6. 16 425 полиморфты SNP-маркерлерді пайдалана отырып, қатты бидай сорттарының коллекциясын филогенетикалық талдау негізінде Қазақстанның бидай сорттары (Гордеиформе 254, Костанайская 12, Костанайская 52, Черноколосая 20) Ресей (Алмаз, Омский рубин, Саратовская 31), Украина (Харьковская 46) және АҚШ (Langdon) сорттарымен бір бірлескен топты қалыптастырды.

7. GWAS пайдалана отырып, қатты бидай коллекциясын талдау нәтижесінде 5 белгі бойынша 59 тұрақты QTL анықталды (масақтану уақыты, өсімдік биіктігі, масақтың ұзындығы, өнімді масақтар саны, 1000 дән массасы).

8. 59 анықталған QTL-ді қатты бидайдың GWAS бойынша бұрын жарияланған жұмыстармен салыстырғанда 32 болжамды жаңа (бұрын белгісіз) QTL анықтады.

9. GWAS талдауында бөлінген қатты бидайдың жиырма SNP-маркерлері KASP-маркерлеріне түрлендірілді. Әртүрлі шаруашылық-құнды белгілермен байланысты KASP-маркерлердің осы жиынтығы селекциялық бағдарламаларда пайдалану үшін ұсынылуы мүмкін.

10. Қатты бидайдың 44 сынамасына 20 KASP-маркерінің валидациясы жүргізілді. Зерттелген белгілер бойынша статистикалық маңыздылықты 5 KASP-маркері көрсетті: *ipbb\_td\_106* (өнімді масақтардың саны), *ipbb\_td\_107* (өнімді масақтардың саны), *ipbb\_td\_116* (масақтың ұзындығы), *ipbb\_td\_117* (масақтың ұзындығы), *ipbb\_td\_119* (1000 дән массасы).

### **Негізгі ғылыми жұмыстардың жоспарымен байланыстылығы.**

Диссертация «Ассоциацияларды толық геномдық зерттеулер негізінде *Triticum durum* Desf. қатты бидайдың шаруашылық-құнды белгілерінің QTL карталау» (№ 0118РК00250, 2018-2020 жж) жобасы шеңберінде, ҚР БҒМ 217 «Ғылымды дамыту» бюджеттік бағдарламасы, 2018-2020 жылдарға арналған 102 «Ғылыми зерттеулерді гранттық қаржыландыру» кіші бағдарламасы шеңберінде орындалды. Басым бағыт: 4. Өмір және денсаулық туралы ғылым. Подприоритет: 4.1 Биология саласындағы іргелі және қолданбалы зерттеулер. – Өсімдіктердің, жануарлардың және адамдардың тіршілік етуінің физиологиялық, биохимиялық және молекулалық-генетикалық механизмдері, олардың қоршаған ортаның биотикалық және абиотикалық факторларына бейімделуі.

**Жұмыстың апробациясы.** Зерттеу нәтижелері «Өсімдік шаруашылығы, мал шаруашылығы және ветеринариядағы биотехнология» (Ресей, 2018 ж.), «From Seed to Pasta» (Италия, 2018 ж.) халықаралық ғылыми-практикалық конференцияларында, «Санкт-Петербург мемлекеттік университеті генетика кафедрасының 100 жылдығына арналған генетиктер мен селекционерлердің Вавилов қоғамының VII съезі және қауымдастырылған симпозиумдар» халықаралық конгресінде (Ресей, 2019 ж.), «VI Халықаралық Фараби оқуларында» (Қазақстан, 2019 ж.) жарияланды. Диссертацияның негізгі нәтижелері ҚазҰУ-ның «Биология және биотехнология» факультетінің ғылыми-техникалық кеңесінде, «Биотехнология» кафедрасының отырыстарында, молекулалық генетика зертханасының ғылыми семинарлары мен «Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты» ШЖҚ РМҚ Ғылыми Кеңесінде тыңдалды. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері АР055131328 жобасы бойынша ғылыми-зерттеу жұмысының есебіне енгізілді (2018, 2019, 2020 ж.ж.).

**Басылымдар.** Диссертацияның негізгі нәтижелері 11 ғылыми жұмыста көрсетілген, оның ішінде Web of Science немесе Scopus деректер базасында индекстелетін, нөлдік емес импакт-фактормен 2 мақала; Scopus деректер базасына кіретін 1 қысқаша хабарлама; ҚР БҒМ БҒСБК тізіміне енгізілген республикалық ғылыми журналдардағы 2 мақала, 1 патент (пайдалы модельді), алыс шетелдерде (Италия), жақын шетелдерде (Ресей) және Қазақстан Республикасында өткізілген халықаралық конференцияларда 5 тезис жарияланған.

**Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан жеке үлесі** алынған нәтижелерді талдау, түсіндіру және ресімдеуді қоса алғанда, зерттеу тақырыбы бойынша мәлімет жинау, теориялық және эксперименттік зерттеулердің негізгі көлемін орындау, жарияланымдардың қолжазбаларын дайындау болды.

**Диссертацияның көлемі мен құрылымы.** Диссертациялық жұмыс белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспеден, әдеби шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, нәтижелер мен талқылаудан, қорытындыдан, 248 атаудан тұратын әдебиеттер тізімінен тұратын 111 бетте мазмұндалған. Құрамына 33 кесте, 30 сурет, 3 қосымша кіреді.