

Амалова Акерке Ықласқызының

«6D060700 – Биология» мамандығы бойынша философия докторы (Ph.D.) дәрежесін алу үшін дайындалған «Екі ата-аналық карталанатын популяцияны пайдалану негізінде жұмсақ бидайдың өнімділік компоненттері мен дән сапасының сандық белгілер локустарын анықтау» тақырыбындағы диссертациясына

АНДАТПА

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Зерттеу жұмысы екі ата-аналық карталанатын популяцияларын қолдану негізінде жұмсақ бидайдың бейімделгіштігінің, өнімділік компоненттерінің және дән сапасының сандық белгілер локустарын анықтауға арналған.

Жұмыстың өзектілігі. Жұмсақ бидай (*Triticum aestivum* L.) әлем халқы үшін энергия және ақуыздың ең бай көзі болып табылады. Жұмсақ бидай өндірісін ұлғайту жаһандық ауқымда азық-түлік қауіпсіздігі үшін маңызды болып табылады (Curtis & Halford, 2014). Қазақстан әлемдегі жұмсақ бидай астығын өндіретін ірі өндірушілердің бірі болып табылады. Жұмсақ бидайды өсіру және өндірудің табысты болуы көп жағдайда сорттық генофондқа, агротехникаға және өнімділігі жоғары сорттарды жасауға бағытталған селекциялық бағдарламаларға байланысты. Өткен ғасырдағы дәнді дақылдардың генетикалық жетілуіндегі прогресс, сонымен қатар фенотипке салыстырмалы түрде айқын әсері бар жеке гендерді қолдануға негізделген. Өнімділік пен сапа белгілері күрделі, үздіксіз өзгергіштікпен сипатталатындықтан және көптеген гендермен (локустармен) бақыланатындықтан, сандық белгілер локустарын (QTL, *quantitative traits loci*), анықтау және карталау, шаруашылық-құнды белгілердің жаңа ақпараттық маркерлерін жасау селекциялық-генетикалық бағдарламалар үшін үлкен маңызға ие. Карталанатын популяциялардың әртүрлі түрлерін және ақпараттық ДНҚ-маркерлерін, соның ішінде KASP-маркерлерін (бәсекелі аллель-спецификалық полимеразды тізбектік реакция, *KBiosciences competitive allele specific PCR*) пайдалану өнімділігі жоғары және жоғары сапалы жаңа сорттарды құрудың тиімді құралы болады.

Зерттеу нысаны: Жаздық жұмсақ бидайдың екі ата-аналық карталанатын популяциясы: 1) Avalon × Cadenza (АхС) популяциясының 101 дигаплоидты линиясы, 2) Памяти Азиева × Paragon (РАхР) популяциясының 94 рекомбинантты-инбредтік линиясы. Сондай-ақ, KASP-маркерлерін валидациялау үшін жұмсақ бидайының 95 сорттары пайдаланылды, оның ішінде Қазақстан Республикасының аумағында пайдалануға рұқсат етілген сорттар бар.

Зерттеу пәні. Жұмсақ бидайдың екі ата-аналық карталанатын популяциясын пайдалану негізінде жұмсақ бидайдың бейімделгіштік қасиеттері, өнімділік компоненті және дән сапасымен байланысты QTL анықтау және карталау.

Зерттеу мақсаты. Екі ата-аналық карталанатын популяцияларды қолдану негізінде жұмсақ бидайдың өнімділігі мен дән сапасының сандық белгілер локустарын анықтау және карталау.

Зерттеу міндеттері:

1. ДНҚ маркерлерін қолдана отырып құрылған екі ата-аналық карталанатын популяцияларының генетикалық картасын сипаттау.

2. Солтүстік, орталық, оңтүстік және оңтүстік-шығыс Қазақстан жағдайларында өсірілген екі ата-аналық карталанатын популяцияларының фенотиптік өзгергіштігін зерттеу.

3. Солтүстік, орталық, оңтүстік және оңтүстік-шығыс Қазақстан жағдайында өсірілген екі карталанатын популяцияның дән сапасы көрсеткіштерінің өзгергіштік деңгейін зерттеу.

4. Екі ата-аналық карталанатын популяциясын пайдалану негізінде жұмсақ бидайдың өнімділік компоненттері мен дән сапасының QTL анықтау және карталау.

5. Қазақстан жағдайында жұмсақ бидай өсірудің тиімділігін арттыру үшін жұмсақ бидайдың өнімділік компоненттері байланысты сандық белгілердің маңызды локустарына ақпараттық KASP-маркерлерін жасау.

Зерттеу әдістері. Жұмыста далалық эксперименттер, биохимиялық, молекулалық-генетикалық және статистикалық әдістер қолданылды. Далалық эксперименттер кешенді зерттеулер шеңберінде келесі ұйымдарда жүргізілді: А.Ф. Христенко атындағы Қарағанды АШТС, Қарабалық АШТС, И. Жахаев атындағы күріш шаруашылығы ҒЗИ, А. И. Бараев ат. астық шаруашылығы ғылыми-өндірістік орталығы, ҚР АШМ Солтүстік Қазақстан АШТС және ҚР АШМ ҚазЕжӨШҒЗИ. Астық сапасын анықтау ҚР МЕМСТ сәйкес ҚазЕжӨШҒЗИ биохимия және дән сапасы зертханасында жүзеге асырылды. Молекулалық-генетикалық зерттеулер ҚР ҒЖБМ ҒК Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты (ӨББИ) молекулалық генетика зертханасының тиісті әдістемесі мен материалдық-техникалық базасын пайдалану арқылы жүргізілді. Жұмсақ бидай үлгілерін генотиптеу үшін ДНҚ-маркерлерінің заманауи түрлері, ДНҚ бөлу және тазарту әдістері, полимеразды тізбекті реакция (ПТР), ДНҚ-маркерлеудің заманауи әдістері қолданылды. QTL карталау *Windows QTL Cartographer v2.5* қолданбалы генетикалық-статистикалық бағдарламасын қолдану арқылы жүзеге асырылды (Wang et al., 2012). Генетикалық картада QTL визуализация жасау үшін *Windows QTL Cartographer v2.5* және *MapChart v2.32 (Voorrips, 2002)* бағдарламалары қолданылды. Алынған деректерді статистикалық өңдеу үшін *GenStat*, *GraphPad*, *SSPS*, *Rstudio* бағдарламалары пайдаланылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы 1) 89 болжамды жаңа QTL анықтаудан және Қазақстан жағдайында жұмсақ бидайдың бейімделгіштігіне, өнімділігіне және дән сапасына байланысты басқа зерттеулерде табылған 71 бұрын белгілі QTL растаудан және 2) жаздық жұмсақ бидайдың неғұрлым перспективалы генотиптерін анықтау үшін 12 KASP-маркерді әзірлеу мен валидациялаудан тұрады. Бейімделгіштік (масақтану уақыты, масақтан пісіп-жетілгенге дейінгі кезең, өсімдік биіктігі), өнімділік (масақ ұзындығы, өнімді масақ саны, бір масақтағы дән саны, 1000 дән массасы, 1 м² өнімділік) және дән сапасының (дәннің натурасы, дәндегі ақуыз мөлшері, клейковина мөлшері, шыны тәрізділігі, қаттылығы, сірке қышқылында тұндыру) көрсеткіштерімен байланысты 864 QTL анықталды. Олардың 160 тұрақты және 525 негізгі QTL болды, ал 89 болжамды жаңа болды. Алғаш рет QTL анықтау Қазақстанның 4 аймағында Памяти Азиева × Paragon және Avalon × Cadenza екі ата-аналық карталанатын популяцияларын қолдану негізінде жүзеге асырылды.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы жұмсақ бидай өсірудің әртүрлі агроклиматтық аймақтары жағдайында рекомбинантты-инбредті және дигиплоидты популяцияларды тарта отырып, бипарентальды генетикалық карталауды пайдалану негізінде жұмсақ бидай бейімделгіштігіне, өнімділігіне және дән сапасына байланысты QTL анықтау болып табылады.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы өнімділік пен дән сапасының бірқатар көрсеткіштері бойынша стандарт сорттардан асып түсетін екі карталанатын популяциясынан 40 перспективті рекомбинантты-инбредті және 15 дигиплоидты

линияларын бөлуден тұрады. Бұл линиялар Қарабалық АШТС ҒЗО, А.И. Бараев атындағы АШҒӨО селекциялық процесіне енгізілген. Селекциялық процестің алғашқы кезеңдерінде пайдалану үшін жеке өнімділік пен сапа көрсеткіштерімен байланысты бастапқы 12 KASP-маркерлерінің жиынтығы расталды.

Қорғауға ұсынылған диссертацияның негізгі жағдайы:

1. Екі ата-аналық дигаплоидты ($A \times C$, 3647 ДНҚ-маркерлері) және рекомбинантты-инбредті ($PA \times P$, 4595 SNP-маркерлері) популяцияларының екі генетикалық картасы бейімделгіштік, өнімділік және дән сапасы белгілері кешені бойынша QTL карталау үшін жоғары ажыратымдылыққа ие екендігі анықталды.

2. Өнімділік және дән сапасы белгілерінің жиынтығы бойынша жұмсақ бидайдың екі карталанатын популяциясын талдау нәтижесінде анықталған 40 рекомбинантты-инбредтік және 15 дигаплоидты линиялар Қазақстанда бидайды жақсарту үшін селекциялық бағдарламаларда пайдалануға арналған құнды генотиптер болып табылады.

3. Екі карталанатын популяциялардың QTL-талдауы нәтижесінде анықталған бейімділік, өнімділік және дән сапасы көрсеткіштерімен байланысты сандық белгілердің 525 негізгі локусы, оның ішінде 160 тұрақты QTL күрделі белгілерді бақылайтын гендерді іздеу үшін маңызды ақпарат береді.

4. Анықталған бейімделгіштік, өнімділік және дән сапасының көрсеткіштерімен байланысты QTL арасында 89 locus жаңа болып табылады.

5. Жұмсақ бидайдың бейімділік және өнімділік белгілерімен байланысқан KASP-маркерлерінің жиынтығы жасалды. Жаздық жұмсақ бидайдың маңызды генотиптерін анықтау үшін шаруашылық-құнды белгілерімен байланысты статистикалық сенімді 12 KASP-маркерлерінің тиімділігі расталды.

Зерттеудің негізгі нәтижелері мен тұжырымдары:

1. Жұмыста жұмсақ бидайдың екі ата-аналық карталанатын популяциясының генетикалық карталары сипатталған: 1) Памяти Азиев \times Paragon 94 рекомбинантты-инбредті линиялары, 2) Avalon \times Cadenza 101 дигаплоидты линиялары. Екі ата-аналық карталанатын популяцияларының генетикалық картасын салыстыру кезінде генетикалық картаның жалпы ұзындығы $A \times C$ (3246,9 сМ) $PA \times P$ (2723,90 сМ) қарағанда үлкен екені анықталды. Бейімделу, өнімділік және дән сапасының белгілерін QTL-карталау үшін екі картаға ($A \times C$, 3647 ДНҚ маркерлері және $PA \times P$, 4595 SNP маркерлері) да ортақ 222 SNP-маркерлері пайдаланылды.

2. $PA \times P$ карталанатын популяциясын фенологиялық және фенотиптік талдау нәтижесінде А.И. Бараев атындағы АШҒӨО (38 РИЛ), Солтүстік Қазақстан АШТС (6 РИЛ) және ҚазЕжӨШҒЗИ (19 РИЛ) жағдайында 1 м^2 (ҮМ2) өнімділігі бойынша стандартты сорттардан асып түсетін 63 РИЛ анықталды. $PA \times P$ популяциясының екі линиясы ($PA \times P$ -01 және $PA \times P$ -05) барлық үш жағдайда да жоғары ҮМ2 мәндерін көрсетті. Сондай-ақ, Қазақстанның төрт аймағында өсірілген $A \times C$ популяциясында Қарабалық АШТС (9 ДГЛ), Қарағанды АШТС (22 ДГЛ), күріш шаруашылығы ҒЗИ (26 ДГЛ) және ҚазЕжӨШҒЗИ (4 ДГЛ) жағдайында ең өнімді 61 дигаплоидты линиялар анықталды. $A \times C$ -52 және $A \times C$ -55 екі линиясы бірден үш жағдайда (солтүстік, орталық, оңтүстік) ең жоғары өнімділікті көрсетті, бұл осы генотиптердің жоғары генетикалық-селекциялық потенциалын көрсетеді.

3. Солтүстік Қазақстан облысында өсірілген $PA \times P$ карталанатын популяциясының сапа көрсеткіштерін талдау нәтижесінде келесі сипаттамаларға сәйкес кластар бойынша таралуының кең диапазоны анықталды: дәннің натурасы, дәндегі ақуыз мөлшері, клейковина мөлшері, шыны тәрізділігі, қаттылығы. $A \times C$

дигаплоидты популяциясының сапа көрсеткіштерін талдау кезінде зерттеудің төрт аймағы арасында дәннің натурасы бойынша кластар бойынша кең таралу диапазоны айқындалды. Дәннің сапасы бойынша RA×P популяциясында 35 құнды және 12 күшті рекомбинантты-инбредтік линиялар және A×C популяциясында 12 құнды және 3 күшті дигаплоидты линиялар анықталды. Өнімділік пен дән сапасы белгілерін талдау нәтижесінде Қазақстанда жаздық жұмсақ бидай селекциясының тиімділігін арттыру үшін 40 рекомбинантты-инбредтік линиялар (RA × P) және 15 дигаплоидтық линиялар (A × C) ең құнды генотиптер ретінде анықталды.

4. Бейімделуге, өнімділікке және дән сапасына қатысты 14 көрсеткіш бойынша RA × P карталанатын популяциясының QTL-талдауының нәтижелесінде 468 QTL анықталды, оның ішінде 229 негізгі және 68 тұрақты QTL және 38 QTL болжамды жаңа. A×C дигаплоидты карталанатын популяциясының QTL талдауы нәтижесінде экономикалық құнды белгілермен байланысты 13 көрсеткіш бойынша анықталған 482 локустың 92 тұрақты және 296 негізгі QTL, 92 тұрақты локустың ішінде 51 QTL жаңа болып табылады. Екі популяцияда (RA × P және A × C) табылған QTL-ды салыстыру нәтижесінде 6 locus келесі көрсеткіштер бойынша екі популяцияға да ортақ екендігі анықталды: 1A, 2D, 5A (3 QTL), 6A хромосомаларында орналасқан өсімдік биіктігі, негізгі масақтың ұзындығы, өнімді масақ саны, 1000 дән массасы. Осылайша, екі популяцияның QTL-талдауы нәтижесінде барлығы 864 QTL анықталды, олардың 160 тұрақты және 525 негізгі локустар, ал 89 QTL болжамды жаңа және 71 бұрын белгілі, басқа зерттеулерде табылған.

5. Екі карталанатын популяцияларын QTL-талдау негізінде KASP маркерлеріне ауыстырылған 17 SNP маркерлерінен тұратын бастапқы жиынтық құрылды. Генотиптеу нәтижелері бойынша 17 KASP маркерінің 12 жұмсақ бидайдың 95 үлгісі үшін полиморфты болды. 12 KASP маркерін валидациялау нәтижелері бойынша 6 KASP маркерлері үшін әртүрлі аллельдері бар екі жағдайдағы үлгілер топтары арасында статистикалық маңызды айырмашылық анықталды: *ipbb_ta_169* (1 м² өнімділік), *ipbb_ta_171* (жоғарғы буынаралық ұзындығы, өнімділік белгілерінің саны, негізгі масақтағы дәндер саны, 1000 дәннің массасы), *ipbb_ta_184* (масақтану уақыты, вегетациялық кезең), *ipbb_ta_185* (негізгі масақтағы дәндер саны, 1 м² өнімділік), *ipbb_ta_197* (масақтану уақыты, вегетациялық кезең, жоғарғы буынаралық ұзындығы), *ipbb_ta_199* (дәндер саны және негізгі масақтың ұзындығы). 6 тиімді KASP маркерлерінің жиынтығы негізінде пайдалы модельге патент алынды.

Негізгі ғылыми жұмыстардың жоспармен байланысы. Диссертациялық жұмыс AP08855387 «Жұмсақ бидайдың өнімділігін, сапасын және ауруға төзімділігін арттыру мақсатында гендерді табу үшін топталған ассоциативті карталау» (2020-2022 ж.ж.), AP14871383 «Қазақстанда жұмсақ бидайдың, қатты бидайдың және арпаның бәсекеге қабілетті сорттарын жасау мақсатында KASP-маркерлерді әзірлеу» (2022-2024 ж.ж.) ҚР БҒМ (қазір ҒЖБМ) гранттық қаржыландыру жобалары шеңберінде және ҚР АШМ BR06249219 «Солтүстік Қазақстан жағдайлары үшін классикалық селекция әдістері мен заманауи биотехнологиялық тәсілдер негізінде құрғақшылыққа төзімді, өнімді, сапалы жаздық бидай сорттарын селекциялау және тұқым шаруашылығы» (2018-2020 ж.ж.) бағдарламасы аясындағы «Солтүстік Қазақстан жағдайында өсірілген жаздық жұмсақ бидайдың құрғақшылыққа төзімділігінің жаңа ДНҚ-маркерлерін құру»

жобасының шеңберінде орындалған. Жобалардың ғылыми жетекшісі б.ғ.к., профессор Е.К. Туруспеков.

Жұмыстың апробациясы. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері халықаралық ғылыми-практикалық конференцияларда баяндалды және жарияланды: «Санкт-Петербург мемлекеттік университетінің генетика кафедрасының 100 жылдығына арналған Вавилов атындағы генетиктер мен селекционерлер қоғамының VII конгресі және ассоциациялық симпозиумдар» халықаралық конгресінде (Ресей, 2019 ж.), PlantGen2021 VI Халықаралық конференциясында (Ресей, 2021 ж.), «Фараби әлемі» студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясында (Қазақстан, 2019, 2020, 2021 ж.ж.); Ветеринария, ауыл шаруашылығы және өмір туралы ғылым бойынша халықаралық конференция (Турция, 2022), IV Халықаралық өсімдік шаруашылығы конгресі (Турция, 2022). Диссертациялық жұмыстың негізгі нәтижелері ҚазҰУ-ның «Биология және биотехнология» факультетінің ғылыми-техникалық кеңесінде, «Биоалуантүрлілік және биоресурстар» кафедрасының отырыстарында, молекулалық генетика зертханасының ғылыми семинарларында, жас ғалымдар конференциялары мен «Өсімдіктер биологиясы және биотехнологиясы институты» ШЖҚ РМК Ғылыми Кеңесінде тыңдалды. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері BR06249219, AP08855387 және AP14871383 жобалары бойынша ғылыми-зерттеу есептеріне енгізілді.

Жарияланымдар. Диссертацияның негізгі мазмұны 16 басылымдарда жарияланды, оның ішінде 5 мақала Scopus және Web of Science халықаралық деректер базасында индекстелетін импакт-факторы бар журналдарда; ғылыми қызметтің негізгі нәтижелерін жариялау үшін ҚР ҒЖБМ БҒССҚК ұсынған журналдарда 3 мақала; 1 патент (пайдалы модель), халықаралық және республикалық конференция материалдарында 7 тезис, оның ішінде 4 шетелдік.

Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан жеке үлесі зерттеу тақырыбы бойынша мәліметтерді жинаудан, теориялық және эксперименттік зерттеулердің негізгі бөлігін орындаудан, оның ішінде талдауды, нәтижелерді түсіндіру мен ұсыну, басылымға қолжазбаларды дайындаудан тұрды.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертациялық жұмыс белгілеулер мен қысқартулардан, кіріспеден, әдеби шолу, зерттеу материалдары мен әдістері, нәтижелер мен талқылаудан, қорытынды бөлімдерінен тұратын, 230 атаудан, оның 179 ағылшын тілінде жазылған әдебиеттер тізімінен тұратын 152 бетте мазмұндалған. Диссертациялық жұмыс 41 кесте, 40 сурет, 6 қосымшадан тұрады.