

«Жаңа өнімді мутантты бидайдың линияларын шығару (алу) және биохимиялық-молекулалық зерттеу» тақырыбында Доктырбай Гулинаның «6D070100 - Биотехнология» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясына

## АНДАТПА

**Диссертациялық зерттеудің жалпы сипаттамасы.** Диссертациялық жұмыс  $^{60}\text{Co}$  гамма сәулесінің түрлі (100 және 200 Гр) дозаларын пайдалана отырып, қазақстандық жаздық бидайының үш түрлі сорты негізінде өнімділігі жоғарылатылған, микроэлементтермен биофортификацияланған генетикалық тұрақты ( $M_5$ ) мутантты линияларын құруға, дәнінің морфологиялық параметрлерін, микроэлементтердің биоқолжетімділігін, зерттелген белгілер арасындағы корреляциялық байланысын, Fe және Zn биофортификацияланған мутантты линиялардың тамыр мен жапырағындағы темір гомеостазына қатысатын гендердің экспрессиялану ерекшелігін зерттеуге арналған.

**Диссертациялық жұмыстың өзектілігі.** Микронутриенттердің тапшылығы бүкіл әлемде халықтың тағам рационында кең таралған. Әлем халқының жартысынан көбінде Fe және Zn тапшылығы басты мәселе болып табылады. Микроэлементтердің жетіспеушілігі «жасырын аштық» деп аталады. Fe тапшылығы мәселесін шешу Орталық Азия мен Қазақстанның, сондай-ақ жалпы мемлекеттердің Денсаулық сақтау министрлігінің басым бағыттарының бірі.

Бидай (*Triticum aestivum* L.) – елдерде жеуге жарамды құрғақ заттардың 28%-ын және тәуліктік каллорияның 60%-на дейін қамтитын, адамдар мен жануарлар тамағының негізгі астық дақылы. Сондай-ақ ол күнделікті тамақтану рационында микронутриенттердің негізгі көзі. Дегенмен, бидай дәнінде, әсіресе қазақстандық сұрыпталған сорттарда үйлестірілген тамақтану үшін қажетті микронутриенттердің мөлшері төмен. Осы себепті бидай дәнін микронутриенттерін генетикалық байыту (биофортификация) қажет.

Көптеген жылдар бойы дәстүрлі сорттарды қазіргі заманғы жоғары өнімді сорттармен асылдандыру бағдарламалары бидайдың генетикалық әртүрлілігінің, астық дәнінің қоректік құндылығының төмендеуіне алып келді.

Микроэлементтер мөлшерінің жоғары жабайы Эммер бидайы мәдени бидаймен салыстырғанда артықшылықтары бар. Алайда қажетсіз гендердің әсерін төмендетуге қажетті қосымша тәжірибелерді жүргізу бидайдың селекциялық құндылығын төмендетеді.

Бидай дәнінің сапасы мен тағамдық құндылығын анықтайтын маңызды қасиет өнім сапасына әсер ететін, дәндегі белок мөлшері. Заманауи бидай сорттарының дәніндегі белок мөлшері мардымсыз. Сонымен қатар өнімділігі мен дәннің белок көрсеткіші арасында корреляция теріс және дәндегі белок мөлшерін арттыратын сұрыптау жүргізу қиындатылған.

Мутагенез - гермоплазмада жоқ бидайды генетикалық жақсарту мен геннің жаңа аллелін индукциялау үшін қолданылатын қуатты құралы. Мутагенезді мутациялық селекцияда өнімділікті арттыру үшін кеңінен пайдаланылды, бірақ бұл әдіс астықтың тағамдық құндылығын, сапасын, Fe және Zn мөлшерін және

дәндердің морфологиялық параметрлерін жақсартуда кең қолданысқа ие болмаған.

Микронутриенттері биофортификацияланған бидай дәнінің сапасын генетикалық жақсартуда маңыздысы, олардың биоқолжетімділігін, металлдардың күшті хелаторы, антинутриент фитин қышқылы (ФК) мөлшерін азайту жолымен арттыру болып табылады. Осыған орай микроэлементтердің биоқолжетімділігі жоғары, фитині аз генотиптерді анықтау үшін жаздық бидайдың генетикалық тұрақты мутантты линияларын скринингтік тексеру жұмыстары жүргізілді.

Дәндегі металлдардың жинақталу процестерін түсіну үшін, Fe және Zn мөлшері жоғары жаздық бидайдың мутантты линияларының тамырлары мен жапырақтарындағы Fe гомеостазына қатысатын негізгі гендердің экспрессия ерекшеліктері зерттелді. Fe-дің сіңірілуін, транслокациясын, жинақталу жылдамдығын қамтамасыз ететін гендердің арасында экспрессияның ең жоғары деңгейі транскрипциялық факторында *TabHLH* (биофортификацияланған мутантты линиялардың тамырларында 13,1 және 30,2 есе) анықталды.

**Зерттеудің мақсаты:** Жаздық бидайдың генетикалық әртүрлілігін кеңейту үшін жаңа генетикалық тұрақты ( $M_5$ ) мутантты линияларын алу және дәнінің тағамдық құндылығымен байланысты сипаттамаларын биохимиялық-молекулалық зерттеу.

**Зерттеу міндеттері:**

1. Жаздық бидайдың генетикалық әртүрлілігін кеңейту үшін, бастапқы Жеңіс, Алмакен, Эритросперум-35 сорттарын  $^{60}\text{Co}$  гамма сәулелесінің 100 және 200 Гр дозасымен өңдеу арқылы генетикалық тұрақты жаңа мутантты линияларды алу.

2. Мутантты линиялар және олардың бастапқы сорттарының өнімділік компоненттерін анықтау және олардың арасындағы корреляциялық байланысты анықтау.

3. Жаздық бидайдың бастапқы сорттары мен мутантты линиялар дәндерін морфометриялық параметрлері бойынша сипаттау.

4. Жаздық бидайдың бастапқы сорттары мен мутантты линиялар дәндеріндегі белок, Fe мен Zn мөлшерін анықтау және микронутриенттері биофортификацияланған үлгілерді (генотиптерді) анықтау.

5. Жаздық бидайдың бастапқы сорттары мен биофортификацияланған мутантты линиялар дәндеріндегі микроэлементтер Fe мен Zn жинақталуын металлдарды гистохимиялық бояу әдісі арқылы анықтау.

6. Жаздық бидайдың бастапқы сорттары мен мутантты линиялар дәндеріндегі микронутриенттер мөлшері, өнімділік компоненттері мен морфометриялық параметрлері арасындағы корреляциялық байланыстарды талдау.

7. Жаздық бидайдың бастапқы сорттары мен мутантты линиялар дәндерінде фитин қышқылы (негізгі антинутриент) мөлшеріне скрининг жүргізу. Микроэлементтердің биоқолжетімділігі жоғары, фитин қышқылы аз генотиптерді анықтау.

8. Fe гомеостазына қатысатын металлды сіңіру процестерін бақылайтын *TaSAMC*, *TaHAC1*, *TaHAAT2-B*, *TaDMQC1-A* мен *TaMKT* гендер, транслокацияны

реттеуге қатысатын *TaYSL* мен *TaVIT2* гендер, металлдың жинақталуына жауапты *TaNRAMP* мен *TaFer1A-D* гендер, және транскрипциялық факторға жауап беретін *TabHLH* ген экспрессиясының ерекшелігін анықтау.

**Зерттеу нысаны:** Жеңіс, Алмакен және Эритросперум-35 сорттары негізінде алынған, генетикалық тұрақты жаңа жаздық бидай М<sub>5</sub> 90 мутантты линиялары және олардың бастапқы сорттары.

**Зерттеу әдістері:** атомдық-адсорбциялық спектрометрия, инфрақызыл спектрометрия әдісі, WinRHIZO бейнелеу жүйесі, ПТР әдісі.

**Зерттеудің ғылыми жаңалығы.** Алғаш рет, физикалық мутагенез арқылы жергілікті жағдайларға бейімделген жаздық бидайдың Жеңіс, Алмакен және Эритросперум-35 сорттарын, гамма сәулеленуінің 100 және 200 Гр дозасымен өңдеу арқылы мутантты линиялар алынды және негізгі масақтағы дәнінің салмағы және саны, 1000 дәннің салмағы жақсартылған линиялар анықталды.

Алғаш рет, алынған мутантты линиялардың морфологиялық параметрлері бастапқы сорттармен салыстырғанда жақсаруымен сипатталды. Сондай-ақ бидай дәндерінің ауданы мен ұзындығы ең өзгермелі фенотиптік белгілер болды.

Алғаш рет, жаздық бидайдың бірқатар жаңа мутанты линияларында микроэлементтердің (белок, Fe және Zn) биофортификациялану қабілеті анықталды, ол өнімділік компоненттері мен дәннің морфометриялық көрсеткіштерінің төмендеуінсіз артты.

Алғаш рет, Fe мен Zn мөлшері биофортификацияланған мутантты линиялардың дәндеріндегі Fe және Zn локализациясын гистохимиялық бояу әдісі арқылы, алейрон қабатында көп мөлшерде шоғырланғандығы анықталды.

Алғаш рет, Fe мен Zn мөлшері биофортификацияланған мутантты линиялардың тамыр және жапырақтағы Fe гомеостазындағы металды сіңіруге қатысатын гендер; *TaSAMS*, *TaHAC1*, *TaHAAT2-B*, *TaDMQС1-A* және *TaMKT*, транслокация жылдамдығын арттыратын гендер; *TaYSL* және *TaVIT2*, металлдың жиналуына жауапты гендер; *TaNRAMP* және *TaFer1A-D*, транскрипция факторы ген *TabHLH* экспрессиясы бағаланды. *TabHLH* транскрипциялық факторының экспрессиясының ең жоғары деңгейі (13,1-ден 30,2 есе) мутантты линиялардың тамырында анықталды.

#### **Жұмыстың ғылыми – практикалық маңыздылығы:**

Қазақстандық жаздық бидай сорттары негізінде жаңа перспективті мутант бидай линияларын алу, генетикалық әртүрлілікті кеңейту және жақсарту үшін индукцияланған физикалық мутагенездің тиімділігі көрсетілді. Өнімділігі, морфологиялық параметрлері және тағамдық құндылығы жақсартылған, жаңа мутантты линияларды анықтаудың кешенді тәсілі әзірленді.

Микроэлементтері биофортификацияланған жаңа мутантты линиялардың тағамдық сапасы (белок, Fe және Zn) мен морфологиялық параметрлері арасында тығыз корреляциялық байланыс анықталды.

Жаздық бидайдың микронутриенттермен биофортификацияланған генетикалық тұрақты мутантты линиялары ҚазЕОҒЗИ, «ҚазАгроИнновация» АҚ-ның селекциялық процестеріне енгізілді.

#### **Қорғауға ұсынылатын негізгі тұжырымдар:**

-100 және 200-Гр радиациялық дозаларын қолданып, Қазақстандық Жеңіс, Алмакен және Эритросперум-35 сорттары негізінде шығарылған жаңа М<sub>5</sub>

мутантты линияларының өнімділік компоненттері, масақтағы дәндерінің саны мен салмағы, 1000 дән салмағы, өсімдіктегі жалпы дәндерінің салмағы бастапқы сорттармен салыстырғанда артты.

-Бастапқы сорттармен салыстырғанда дәндердің морфологиялық параметрлері (ауданы, ұзындығы және ені) жақсарған мутантты линиялар анықталды. Сондай-ақ дәндердің ауданы мен ұзындығы ең өзгермелі фенотиптік белгілер болды.

-Өнімділік компоненті мен дәндердің морфологиялық параметрлерінің төмендеуінсіз жаңа мутантты линияларда микронутриенттермен (белок, Fe және Zn) биофортификациялану қабілеті анықталды.

-Дәндеріндегі фитин қышқылының (негізгі антинутриент) мөлшері төмендеу нәтижесінде микронутриенттердің биосіңімділігі жоғары генотиптер алынды.

-Эритросперум-35 сортының Fe және Zn мөлшері биофортификацияланған линияларының дәндеріндегі метал жинақталу механизмдерін түсіну мақсатында темір гомеостазына қатысатын гендердің экспрессиясы зерттелді. *TaSAMC*, *TaHAC1* және *TaDMQС* гомологиялық гендердің экспрессиясы бастапқы сортпен салыстырғанда зерттелген мутантты линиялар тамырларында 2,1 – 4,7 есе жоғарылады. Сондай-ақ, *TaYSL* және *TaVIT2* комбинацияланған экспрессиясы мутантты линиялар тамырларында 1,3 – 2,7 есе артқаны анықталды. Fe клеткаішілік тасымалын кодтайтын және аккумуляциясына жауап беретін гендер *TaNRAMP* және *TaFer1A-D* тамырлар мен жапырақтарда активацияланды. Ең жоғары мәнгер *TabHLH* транскрипциялық факторында тіркелді, мутантты линиялардың тамырында 13,1 -ден 30,2-есеге артық экспрессияланды.

#### **Зерттеудің негізгі нәтижелері мен қорытындылары:**

1. <sup>60</sup>Co гамма сәулелесінің 100 Гр- және 200 Гр- дозаларымен өңдеу арқылы жаздық бидайдың генетикалық әртүрлілігін кеңейту нәтижесінде Жеңіс, Алмакен, Эритросперум-35 генетикалық тұрақты жаңа мутантты линиялар шығарылды.

2. 100 және 200 Гр дозаларымен сәулеленген 10 М<sub>5</sub> мутантты линияның (11,1%) масақтарындағы дәндердің саны, өсімдіктегі жалпы дәндердің салмағы және 1000 дән салмағы айтарлықтай жоғарылағаны анықталды, 19 мутантты линияның (21,1%) жалпы өсімдіктегі дән салмағы, 1000 дән салмағы, бастапқы сорттармен салыстырғанда айтарлықтай артты.

3. Зерттеулер көрсеткендей, мутантты бидай дәндерінің ауданы және ұзындығы ең өзгермелі фенотиптік белгілер болды. Мутантты линиялар дәндерінің ұзындығы мен ені бастапқы сорттармен салыстырғанда 7,6-34,9% және 11,8- 34,4%-ке жоғарылады. Барлық морфологиялық параметрлерді жақсартудың генерациясы үшін 200 Гр-дозасымен өңдеу тиімдірек болды.

4. Дәндердегі белок мөлшері бастапқы сорттармен салыстырғанда 3,4-16,9% жоғарылады. Дәндегі Fe және Zn мөлшері бойынша биофортификацияланған мутантты линиялар анықталды. Дәндердегі металдардың шоғырлануында Fe үшін 46,4-111,3 мг/кг және Zn үшін 50,6- 106,2 мг/кг мәнгерін құрды. Мутантты линиялар дәндеріндегі Fe мөлшерінің ең жоғары мәні 200 Гр мутантты гермоплазмада анықталды.

5. Fe мен Zn мөлшерлері бойынша биофортификацияланғанды гистохимиялық талдауда, олардың дән алейроны мен эндоспермінде жоғары деңгейі анықталды.

6. Жеңіс және Алмакен 200 Гр мөлшерімен дозаланған мутантты линиялардың дәндеріндегі белок мөлшері мен дәндердің барлық морфологиялық параметрлері арасындағы корреляция ( $r^2 = 0,11-0,25$ ,  $p < 0,05$ ) оң болды. Бұл нәтижелер дәндердің белок мөлшерін жинау потенциалын жақсартуда, олардың морфологиялық параметрлерінің жоғарлайтындығын көрсетті. Алмакен 100 Гр сәулесімен өңделген мутантты линиялардың дәндерінің Fe мөлшері, өнімділік компоненттерінің 1000 дән салмағымен ( $r^2 = 0,15$ ,  $p < 0,01$ ) және өсімдіктегі жалпы дәндердің салмағымен ( $r^2 = 0,30$ ,  $p < 0,001$ ) корреляциясы оң нәтиже көрсетті. Fe және Zn мөлшері арасындағы корреляция Жеңіс пен Эритросперум-35 сорттарында сәулеленудің жоғары дозасында және Алмакен, Эритросперум-35 сорттарында сәулеленудің төмен дозасында ( $r^2=0,22$ ,  $p<0,05$ ), ( $r^2=0,15-0,42$ ,  $p<0,001$ ) мәндерін көрсетті. Бұл нәтиже металдардың жинақталуы, бір локуспен немесе бір белок, фермент арқылы бақыланатынын көрсетеді.

7. Дәндердегі фитин қышқылының (ФҚ, негізгі антинутриенті) мөлшерін талдауда, үлкен генетикалық өзгергіштік мутантты линиялардың арасында байқалды. 200 Гр-мен шығарылған Жеңіс және 100 Гр-мен өңделген Алмакен мутантты линияларда фитин қышқылының мөлшері 1,1-5,8 есеге азайғандығы анықталды. Мутантты линиялардың ФҚ:Fe және ФҚ:Zn молярлық қатынасының өзгергіштігі 1,14–14,5 және 0,9–13,0 екендігі анықталды. Микронутриенттері биофортификацияланған мутантты линиялардағы микроэлементтердің биожетімділігі сәйкесінше, 1-8,7 және 1,1-7,9 есе артты.

8. Биофортификацияланған мутанттарда Fe мен Zn темір гомеостазына қатысатын гендер экспрессиясының орган-спецификалық ерекшеліктері анықталды. Бидайдың *TaSAMC TaHAC1* мен *TaDMQС1-A* гомологты гендер экспрессиясы бастапқы сортпен салыстырғанда, зерттелген мутантты линиялар тамырында 2,1-4,7 есеге, *TaYSL* және *TaVIT2* экспрессиясы 1,3–2,7 есеге айтарлықтай артты. Экспрессияның ең жоғары деңгейі мутантты линиялар тамырындағы *TabHLH* транскрипциялық факторында (13,1- және 30,2-есе) тіркелді.

**Жұмыстың ғылыми-зерттеу жобалармен байланысы.** Диссертациялық жұмыс ҚР БҒМ ҒК 074/ГФ «Маңызды бейімділік қасиеттерін бақылайтын асыл тұқымды құнды нысандар мен жаңа гендерді анықтауға арналған мутантты бидай линияларын құру және зерттеу» (2012-2014 жж.) (Мемлекеттік тіркеу № 012РК00581) және МАГАТЭ-нің KAZ/5003 «Микронутриент мөлшері мен өсімдіктің биофильділігін интеграциялау тәсілі арқылы арттыру» (2012-2015 жж.) ғылыми жобалары шеңберінде жасалды.

**Басылымдар.** Диссертацияның негізгі мазмұны 32 баспа жұмыстарында, оның ішінде Scopus-тағы импакт-факторы бар халықаралық журналында 2 мақала, Білім және ғылым саласындағы бақылау комитетінің тізімінде 8 мақала, шетелдік ғылыми кітаптар топтамасында 2 мақала, шетелдік ғылыми журналдарда 2 мақала, халықаралық конференциялар мен симпозиумдар жиынтығында 18 тезис жарияланды.

**Жұмыстың құрылымы мен көлемі.** Диссертация жұмысының мәтіні белгілеулер, қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерке шолу, зерттеу материалдары, әдістері, зерттеу нәтижелері және талдау, қорытынды, әдебиеттер тізімі бөлімдерін қосқанда 126 беттен тұрады. Пайдаланылған әдебиеттер саны 200.