Досжанова Ботакоз Нурмаганбетовнаның
«8D05105 – Биотехнология» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (Ph.D) ғылыми дәрежесін алу үшін **«Сояның (*Glycine max* (L.) Merr.) шаруашылық-құнды белгілерінің практикалық селекциясына арналған ассоциацияларды толық геномдық талдау»** тақырыбында дайындалған диссертациясының

АҢДАТПАСЫ

Жұмыстың өзектілігі. Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) – дүние жүзі бойынша аса маңызды дәнді бұршақты дақылдардың бірі болып табылады. Ол тағам өнімдері, мал азықтық және өнеркәсіптік мақсаттар үшін ақуыз бен майға бай өсімдік ретінде кеңінен қолданылады. Экономикалық және практикалық маңыздылығына байланысты Қазақстанда бұл дақылдың жыл сайын жаңа егіс алқаптары игерілуде. Сояның шаруашылық-құнды белгілеріне жауапты генетикалық факторларды анықтауы жеделдетілген селекция және жоғары өнімді жаңа сорттарды шығаруға мол мүмкіндік береді. Заманауи биотехнологиялық тәсілдер, әсіресе молекулалық-генетикалық маркерлерді пайдалану, бұл бағыттағы селекциялық жұмысты айтарлықтай жеңілдетеді. Мұндай зерттеу нәтижелерін жаһандық деңгейде тәжірибеге енгізу ауыл шаруашылық дақылдарының селекциясын дамытып, уақыт пен қаржылық ресурстарын үнемдейді. Осыған байланысты, Қазақстандық және шетелдік сояның генетикалық ресурстарын заманауи молекулалық - генетикалық әдістерімен зерттеу жұмыстары ғылымның іргелі де, қолданбалы да бағыттарында зор маңызға ие.

Зерттеу нысаны. Зерттеу нысаны ретінде шығу тегі әртүрлі 252 соя (*Glycine max* (L.) Merr.) сорттары мен линияларынан тұратын коллекция алынды, оның ішінде 31 қазақстандық селекция үлгілері.

Зерттеу пәні. Зерттеу пәні ретінде Алматы облысында өсірілген соя коллекциясына жүргізілген ассоциациялар толық геномдық талдау (АТГТ) және сояның өнімділігі мен сапасын айқындайтын белгілермен байланысты маркер-белгі ассоциациялары (*marker-trait associations*, МТА) мен бәсекелес аллель-спецификалық ПТР (*Kompetitive Allele-Specific PCR,* KASP) типті ДНҚ-маркерлерін анықтау алынды.

Зерттеу мақсаты. Ассоциациялар толық геномдық талдау арқылы соя (*Glycine max* (L.) Merr.) өнімділігі мен сапасын айқындайтын белгілерімен байланысты МТА анықтау – зерттеудің басты мақсаты болып табылады.

Зерттеу міндеттері:

1. Алматы облысының өңірінде өсірілген әлемдік соя коллекциясының өнімділігі мен сапасын анықтайтын шаруашылық-құнды белгілердің өзгергіштігін зерттеу;
2. Соя селекциясын жетілдіру мақсатында шаруашылық-құнды белгілер негізінде перспективті сорттар мен линияларды іріктеу;
3. Ресеквенирлеу негізінде (whole-genome resequencing, WGRS) соя коллекциясына бір нуклеотидті полиморфизм (single nucleotide polymorphism,

SNP) маркерлерін пайдалана отырып генетикалық алуантүрлілігін зерттеу, яғни коллекцияның құрамына кіретін Қазақстан, Шығыс және Батыс Еуропа, Шығыс Азия мен Солтүстік Америкадан алынған үлгілердің генетикалық құрылымына сипаттама беру;

4. АТГТ технологиясын қолдану арқылы соя тұқымдарының өнімділігі мен сапасын айқындайтын маркер-белгі ассоциацияларын (МТА) анықтау;

5. Маңызды ассоциациялардың негізінде гаплотиптерді зерттеу және сояның шаруашылық-құнды белгілерімен байланысты KASP әдісіне негізделген жаңа ДНҚ-маркерлерін әзірлеу.

Зерттеу әдістері. Осы зерттеуде егістік жұмыстар, биохимиялық, молекулалық-генетикалық және статистикалық зерттеу әдістері қолданылды. Егістік жұмыстар Қазақ Егіншілік және Өсімдік Шаруашылығы Ғылыми-Зерттеу Институтында (ҚазЕжӨШҒЗИ, Алмалыбақ, Алматы облысы) жүргізілді. Тұқым сапасын анықтау ГОСТ 32749-2014 стандартына сәйкес NIRS ҚазЕжӨШҒЗИ-ның зертханасында DS2500 анализаторы (FOSS, Хиллерёд, Дания) қолданылды. Молекулалық-генетикалық зерттеу әдістері, яғни соя өскіндерінен ДНҚ бөліп алу, оның сапасын тексеру және визуализациялау процедуралары ҚР ҒжЖБМ «Өсімдіктер биология және биотехнология институтының» молекулалық генетика зертханасының материалдық-техникалық базасы арқылы жүзеге асырылды. Ресеквенирлеу жұмыстары Қытайдың Гуанчжоу қаласындағы Гуанчжоу Университетінің жаратылыстану ғылымдары мектебінің кафедрасында Illumina HiSeq X Ten жүйесімен жүргізілді. Биометриялық статистика әдістеріне дисперсиялық талдау, Пирсон корреляциясы, Стьюденттің t-тесті және нәтижелерді RStudio платформа арқылы визуализациялау кірді. Сондай-ақ, статистикалық әдістер ретінде регрессиялық талдау үлгілері қолданылды: R платформасындағы GAPITтің көп локустық аралас модель (*multi-locus mixed model, MLMM*), NJ (*Neighbor joining*) әдісімен кластерлеу, STRUCTURE бағдарламасында Байесовтық Марков тізбегі Монте-Карло әдісі (*Markov chain Monte Carlo, MCMC*). Диссертациялық жұмыс аясында Жапония және Қытай елдеріндегі әріптестермен тығыз ғылыми ынтымақтастық орнатылды. 2019 жылы докторант зерттеу тақырыбы бойынша Хоккайдо Зерттеу Орталығында шетелдік ғылыми кеңесшінің жетекшілігімен ғылыми тағылымдамадан өтті.

Жұмыстың ғылыми жаңалығы. SNP-маркерлерді пайдалану негізінде қазақстандық соя сорттары мен линияларының генетикалық профилі шетелдік үлгілермен салыстырылып, сояның әлемдік коллекциясының популяциялық құрылымы зерттелді. Зерттеудің ғылыми жаңалығы — молекулалық-генетикалық заманауи әдістерді қолдану арқылы сояның шаруашылық-құнды белгілерімен байланысты 46 тұрақты МТА анықтау. Оның ішінде 25 МТА — бұрын сипатталмаған, яғни жаңа болуы ықтимал. Анықталған тұрақты МТА ішінде бірнеше белгілермен байланысты 6 плейотроптық МТА тіркелді. Ең көп МТА өнімділік компоненттерімен байланысты болды(20), одан кейін протеин мен май мөлшері (18), тұқым өлшемдері (5), және бұршаққаптың жарылу қабілетімен (3) байланысты МТА анықталды. Алынған нәтижелер

генотип (G, genotype) пен орта (E, environment) арасындағы өзара әрекеттестікті ескеретін жергілікті өсіру жағдайларында генетикалық-селекциялық зерттеулердің маңыздылығын көрсетеді. Идентификацияланған ассоциациялар сояның шаруашылық-құнды белгілерін реттейтін кандидат-гендерді терең зерттеу үшін негіз бола алады. Бұл нәтижелер болашақта жетілдірілген соя сорттарын жасауға бағытталған селекция негізін қалыптастырады.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы. Анықталған маңызды әрі тұрақты ассоциациялар негізінде шаруашылық-құнды белгілермен байланысты тиімді гаплотиптер анықталды. Бұл ассоциациялар соя тұқымының сапасы мен ауыл шаруашылық дақылдарының жалпы өнімділігін арттыруға бағытталған селекцияда құнды құрал — ақпараттық мәні жоғары жаңа KASP-маркерлерін әзірлеуге негіз бола алады. «KASP маркерлерінің жиынтығын пайдалана отырып, асыл тұқымды соя дақылдарын (*Glycine max* (L.) Merr.) анықтау тәсілі» атты пайдалы модельге арналған №9289 патент әзірленіп, тіркелді. Бұл әдіс селекцияны жалғастыру үшін құнды линияларды тиімді іріктеуге мүмкіндік береді. Алынған нәтижелер Қазақстандағы сояның қалаулы белгілерін жақсартуға бағытталған селекциялық бағдарламаларға енгізілуі мүмкін.

Зерттеудің теориялық маңыздылығы. Осы жұмыстың негізгі гипотезаның бірі — Оңтүстік-Шығыс Қазақстан жағдайында өсірілген сояның әлемдік коллекциясы негізінде шаруашылық-құнды белгілермен байланысты жаңа және бұрын сипатталған МТА анықтау мүмкіндігі. Анықталған МТА болашақта терең зерттеуге және олардың кандидат-гендерін анықтауға болады. Алынған нәтижелер генотип пен қоршаған орта арасындағы өзара әрекеттестік ерекшеліктерін ескере отырып, сояның генетикалық-селекциялық зерттеулерінде тиімді қолданылуы мүмкін және жақсартылған соя сорттарын жасауға бағытталған селекция үшін теориялық негіз болып табылады.

Қорғауға ұсынылған диссертацияның негізгі қағидалары:

1. Қазақстаннан, Шығыс және Батыс Еуропадан, Шығыс Азия мен Солтүстік Америкадан алынған 252 сорт пен линиядан тұратын соя коллекциясы Алматы облысының өңірінде фенотиптік алуантүрліліктің жоғары деңгейіне ие. Бұл коллекция сояның шаруашылық-құнды өзгергіштігіне әсер ететін жаңа генетикалық факторларды анықтауға бағытталған АТГТ жүргізу үшін тиімді генетикалық ресурс болып табылады.

2. Соя коллекциясын 10 шаруашылық-құнды белгілер бойынша фенотиптік бағалау нәтижесінде, Алматы облысындағы стандарт сорттың көрсеткіштерін асқан, 9 отандық және 42 шетелдік генотип іріктелді. Бұл генотиптер сояның селекциялық бағдарламаларда пайдалану үшін құнды ресурс болып табылады.

3. Ресеквенирлеу негізінде әлемдік соя коллекциясының географиялық шығу тегіне байланысты үш негізгі субпопуляцияға бөлді және генетикалық алуантүрліліктің жоғары деңгейімен сипатталды. Анықталған генетикалық

құрылым мен популяцияның алуантүрлілік деңгейі АТГТ жүргізуге қойылатын негізгі талаптарға толық сәйкес келеді.

4. АТГТ нәтижесінде соя тұқымдарының өнімділігі мен сапасын айқындайтын белгілермен байланысты 106 маңызды МТА анықталды, олардың ішінде 46 тұрақты ассоциациялар тіркелді. Бұл ассоциациялар ауыл шаруашылығы дақылдарының күрделі сандық белгілерін реттейтін генетикалық факторларды іздеу үшін маңызды ғылыми дерек болып табылады. Тұрақты 46 ассоциацияның ішінен 25 болжамды жаңа МТА-ны анықтауға мүмкіндік берді. Ал 21 МТА бұрынғы зерттеулерде анықталған, яғни осы жұмыстан алынған нәтижелердің сенімділігін растайды.

5. Анықталған маңызды және тұрақты МТА негізінде шаруашылық-құнды белгілермен байланысты тиімді гаплотиптер іріктелді. Бұл гаплотиптер жоғары өнімді және сапалы отандық соя сорттарын шығару мақсатындағы селекциялық бағдарламалардың бастапқы кезеңдерінде қолдануға болады. Сонымен қатар, өнімділікті анықтайтын бірнеше белгілерімен байланысты ең маңызды ассоциациялар KASP маркерлеріне (*ipbb_gm_141*, *ipbb_sd_16* және *ipbb_sd_17*) айналдырылды, оларды селекциялық бағдарламаларда қолданудың жоғары тиімділігін көрсетілді.

Негізгі ғылыми жұмыстың жоспармен байланысы. Диссертациялық жұмыс ҚР ҒжЖБМ гранттық қаржыландыру жобалары аясында орындалды: AP05131592 «Қазақстандағы саңырауқұлақ ауруларына соя төзімділігінің ассоциациялар толық геномдық талдау», AP13068118 «Әлемдік коллекцияның толық геномын ресеквенирлеу негізінде сояның (*Glycine max* (L.) Merr.) шаруашылық маңызы бар белгілерімен байланысқан гендерді іздеу» (2022-2024 жж.) және ғылыми-техникалық бағдарлама BR24992903 «Экономикалық маңызы бар ауыл шаруашылығы дақылдарын іріктеуге қазіргі заманғы молекулалық-генетикалық, физиологиялық-биохимиялық, биотехнологиялық әдістер мен цифрлық фенотиптеуді практикалық енгізу» (2024-2026жж.).

Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан жеке үлесі зерттеу тақырыбы бойынша деректерді жинауды, теориялық және эксперименттік зерттеулерді орындауды, соның ішінде нәтижелерді талдауды, түсіндіруді және ұсынуды, сондай-ақ мақалаларды жариялауға дайындауды қамтиды.

Ғылыми-зерттеу жұмысының апробациясы. Диссертациялық жұмыстың нәтижелері келесі халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференцияларда баяндалып, жарияланды: «Фараби әлемі» атты студенттер мен жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (Алматы, Қазақстан, 2019, 2020, 2025), Молекулалық Биология және Биохимия Институтының 40 жылдығына арналған жас ғалымдардың халықаралық ғылыми конференциясы (Алматы, Қазақстан, 2023), Өсімдіктер Биология және Биотехнология халықаралық конференция (Алматы, Қазақстан, 2024), жас ғалымдардың 4-ші мектебі «Өсімдіктер генетика, геномика, биоинформатика және биотехнологиясы» – PlantGen School 2024 (Новосібір, Ресей, 2024). Диссертациялық жұмыстың негізгі нәтижелері жыл сайын әл-

Фараби атындағы ҚазҰУ-дың «Биология және биотехнология» факультетінің «Биотехнология» кафедрасының ғылыми семинарларында, Өсімдіктер биология және биотехнология институтының Молекулалық Генетика зертханасының ғылыми кеңістерінде, талқыланды. Сонымен қатар, диссертациялық жұмыстың нәтижелері AP05131592, AP13068118 және BR24992903 жобалары аясындағы ғылыми-зерттеу жұмыстарының есептеріне ішінара енгізілді.

Жарияланымдар. Диссертациялық жұмыстың негізгі мазмұны 12 баспа жұмысында жарияланды, оның ішінде 5 мақала — Scopus және/немесе Web of Science деректер базасына енгізілген, 1 пайдалы модельге арналған патент, 5 тезис — отандық халықаралық конференция материалдарында, және 1 постер — шетелдік халықаралық конференцияда ұсынылды.

Қорытынды. Осы зерттеуде сояның (Glycine max (L.) Merr.) өнімділік компоненттері, сапа көрсеткіштері және морфологиялық белгілері сияқты маңызды шаруашылыққа құнды белгілерімен байланысты маркер-белгі ассоциацияларын анықтау бойынша кешенді жұмыс жүргізілді. Алынған нәтижелер негізінде келесі қорытынды жасалды:

1) Қазақстанның, Шығыс және Батыс Еуропаның, Шығыс Азия мен Солтүстік Американың 252 соя сорты мен линияларынан құралған коллекция Алматы облысының жағдайында жоғары фенотиптік алуатүрлілікке ие екенін анықталды. Он шаруашылық-құнды белгілердің жиынтығы бойынша бұл коллекция белгілерінің өзгергіштігіне әсер ететін жаңа генетикалық факторларды анықтау мақсатында АТГТ жүргізу үшін тиімді генетикалық ресурс болып табылады. ANOVA талдауы зерттелген барлық белгілердің ішінде генотип (G) ең үлкен әсерді тұқым сапасының көрсеткіштеріне тигізетінін көрсетті ($P < 2\times10^{-16}$). Ал орта (E) өнімділік компоненттеріне көбірек әсер етті ($P < 2\times10^{-16}$). Генотип пен ортаның өзара байланысы (G × E) белгілердің басым бөлігі үшін маңызды болды, бұл сорттарды өндіріске енгізбестен бұрын түрлі агроэкологиялық аймақтарда сынаудың қажеттілігін дәлелдейді ($P < 0.01$). Корреляциялық талдау протеин мөлшері және май мөлшерімен бірге өнімділік компоненттері арасында кері бағыттағы маңызды байланыс бар екенін анықтады ($P < 0.05$), бұл селекциялық бағдарламалар үшін ерекше маңызды. Сонымен қатар, дән өлшемі белгілері, яғни ұзындығы мен қалыңдығы, май мөлшерімен және өнімділікпен оң корреляция көрсетті ($P < 0.05$).

2) Соя коллекциясын 10 шаруашылық-құнды белгілер бойынша фенотиптік бағалау нәтижесінде өнімділігі мен сапа көрсеткіштері жоғары 9 отандық (Даная және Память ЮГК сорттары, 186/1, 126/1, 173/1, 261/1, 391, 209/1, 350/1 линиялары) және 42 шетелдік генотип іріктеліп алынды. Бұл генотиптер Алматы облысы бойынша стандарт сорттан жоғары көрсеткіштерге ие болды. Аталған генотиптер өнімділігі және сапасы жоғары соя сорттарын жасауға бағытталған селекциялық бағдарламаларда қолдануға бағалы ресурс болып табылады.

3) Ресеквенирлеу барысынды 4 923 660 SNP маркерлерін пайдалана отырып, 252 соя үлгісінен тұратын коллекцияны генотиптеу өткізілді, яғни сол маркерлердің ішінен жоғары сапалы және АТГТ жүргізу үшін арналған 44 385 SNP маркерлер іріктеліп алынды. Географиялық шығу тегіне қарай бөлінген әлемдік соя коллекциясы үш негізгі субпопуляциядан тұрады. Қазақстаннан шыққан 31 үлгі осы үш субпопуляцияның барлығында кездескен, бұл Қазақстандағы соя селекциясында әлемнің алуантүрлі аймақтарынан алынған гермоплазманың кеңінен пайдаланылатынын көрсетеді.

4) АТГТ 106 маңызды МТА анықтады, олардың ішінде 46 тұрақты және статистикалық шектен асатын ассоциациялар болды. Бұл 46 тұрақты ассоциацияның ішінен 25-і ғылыми әдебиеттерде бұрын сипатталмаған, яғни болжамды жаңа МТА ретінде анықталды. Ал 21 МТА бұған дейінгі зерттеулерде кездескен, яғни осы жұмыста алынған нәтижелердің сенімділігін растайды. 25 болжамды жаңа МТА-ның ішінде өнімділік компоненттеріне қатысты 15 ассоциация, сапа белгілеріне қатысты 5, дән өлшеміне байланысты 3 және бұршаққаптардың жарылуна байланысты 2 ассоциация анықталды.

5) Маңызды ассоциациялар негізінде сояның өнімділігі мен сапасына әсер ететін белгілерге байланысты тиімді гаплотиптер анықталды ($P < 1\times10^{-4}$). Бұл гаплотиптер жоғары өнімді және сапалы отандық соя сорттарын жасауға бағытталған селекциялық бағдарламалардың ерте кезеңдерінде қолдануға қолайлы. Бірнеше маңызды белгілермен байланысқан ассоциациялар KASP маркерлеріне - *ipbb_gm_141, ipbb_sd_16* және *ipbb_sd_17*- аударылған, оларды селекциялық жұмыстарда қолданудың жоғары тиімділігін көрсетті ($P < 0.05$).