

SSR-МАРКЕРЛЕРІН ҚОЛДАНА ОТЫРЫП, ҚЫТАЙБҰРШАҚ ҮЛГІЛЕРІНІҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ӘРТҮРЛІЛІГІН БАҒАЛАУ

Амангелдиева А.А.^{1,2*}, Ержебаева Р.С.¹, Дидоренко С.В.¹¹Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми зерттеу институты, Қазақстан, 040909 Алматыбақ аул., Ер-леспесов көш., 1²Әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Қазақстан, Алматы қ., 050040, Әл-Фараби даңғылы, 71

* Корреспондент автор: aigul_seidinabiyeva@inbox.ru

АБСТРАКТ

Қытайбұршақ (*Glycine max* L.) – әлемдегі көптеген халықтың ақуыз бен майға деген қажеттілігін қанағаттандыру үшін қолданылып отырған маңызды бұршақ дақылы. Қытайбұршақ үлгілерінің генетикалық әртүрлілігін бағалау генетикалық базаны кеңейту және селекциялық бағдарламалардың тиімділігін арттыру үшін өте маңызды. Бұл зерттеудің мақсаты 15 полиморфты SSR маркерлерін пайдалана отырып, олардың генетикалық дифференциация дәрежесін және селекцияда пайдалану әлеуетін анықтау үшін қытайбұршақтың 188 үлгісінің генетикалық әртүрлілігін бағалау болды. Зерттеу нәтижесінде барлығы 55 аллель анықталды, бір локусқа орта есеппен 2,68 аллель. Полиморфтылықтың ақпараттың мәні (PIC) Satt385 маркері үшін 0,35-тен (Satt385) 0,74-ке (Satt409) дейін өзгерді, орташа есеппен 0,61. Күтілетін гетерозиготалық (He) 0,35-тен (Satt385) 0,74-ке (Satt409) дейін өзгерді, орташа мәні 0,60. Сонымен қатар аллельдердің бинарлық деректері негізінде жасалынған филогенетикалық *Neighbor-Joining* (NJ) ағаш 3 негізгі кластерді анықтады, олардың әрқайсысы екі қосалқы кластерге бөлінеді. Сонымен қатар, дәл осы молекулалық-генетикалық мәліметтерге сүйене отырып (UPGMA) генетикалық қашықтықтың әртүрлі деңгейлерінде (0,21; 0,22;) 2 және 1 сәйкесінше негізгі кластерді анықтауға мүмкіндік берді. Алынған кластерлер жергілікті және шетелдік генотиптер арасындағы әр түрлі қатынастарды көрсетеді, бұл жергілікті генофондтың сақталуын да, оның шетелдік сорттармен қосу арқылы кеңеюін де көрсетеді. Осы зерттеу нәтижесінде алынған қытайбұршақ генотиптерінің арасында әртүрлілік туралы ақпарат, болашақта селекционерлерге селекциялық процесте ата-аналық формаларын тандауға көмектеседі.

Кілт сөздер: қытайбұршақ, SSR-маркер, генетикалық әртүрлілік, аллель, генотип, кластерлік талдау.

КІРІСПЕ

Қытайбұршақ «ғажайып дақыл» болып саналады, өйткені ол майдың да, ақуыздың да негізгі көзі болып табылады [1-4]. Бұл әлемдегі ең көп өсірілетін төртінші дақыл [1,3]. Жалпы өндіріс және сауда көлемі бойынша қытайбұршақ әлемдегі жетекші майлы дақылдар мен бұршақ дақылдарының қатарына кіреді [5,6]. Қытайбұршақ [*Glycine max* (L.) Merrill] 20 жұп хромосомаға ие және оның геномының өлшемі шамамен 1100 мегабайт (Mb) [7]. Ол өзін-өзі тозандандыратын дақыл, сондықтан төмен аллельді әртүрлілікпен сипатталады [3,4]. Әлемде өндірісі жылына 1,4% өседі деп күтілетін рапс, күнбағыс және жержаңғақ сияқты басқа негізгі майлы дақылдармен салыстырғанда, қытайбұршақтың өндірісі алдағы 10 жылда жылына 1,6% - ға тез өседі деп болжануда [1].

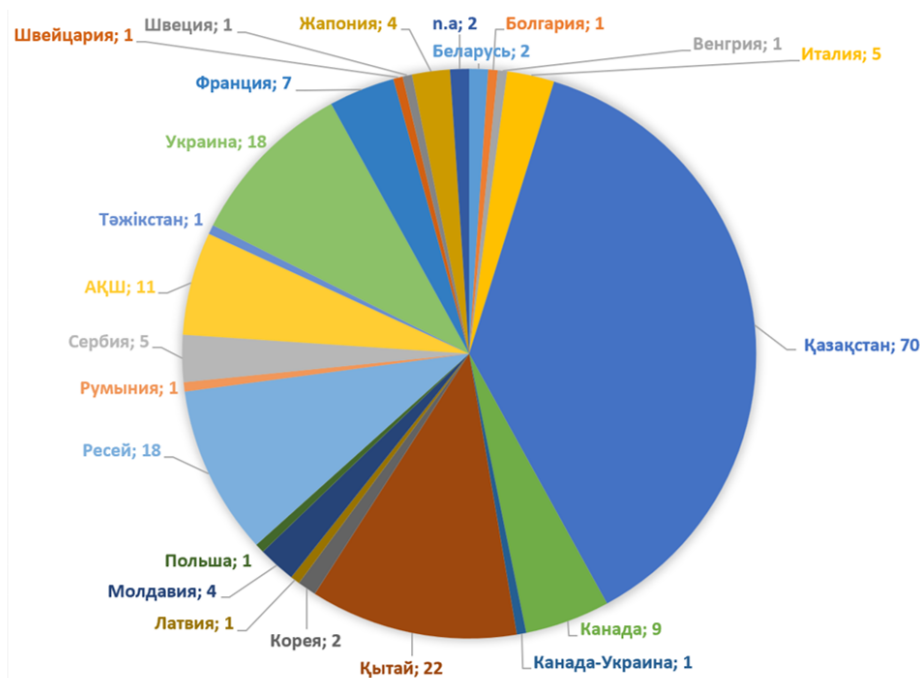
Қытайбұршақ бойынша селекциялық-тұқым өсіру жұмыстары Қазақстанда 40 жылдан астам уақыт бойы жүргізіліп келеді. Осы уақыт ішінде 16 сорт өсіріліп, өндіріске енгізілді. Қазақстанда қытайбұршақты өнеркәсіптік өңдеу 1986 жылы 10 гектардан аз алаңда басталды. 2015 жылға қарай егіс алқаптары шамамен 115 мың гектарға дейін кеңейді [8], ал 2019-2020 жылдары максималды көрсеткішке - шамамен 139 мың гектарға жетті. Соңғы жылдары егіс алқаптарының біршама қысқаруы байқалды: ағымдағы кезеңдегі деректер бойынша олар шамамен 99 мың гектарды құрайды, бұл ретте қытайбұршақ тұқымын өндіру көлемі 208 мың тоннаға жетеді, бұл көлем елдің мал және құс шаруашылығы шаруашылықтарының ақуыз-жемшөп шикізатына қажеттіліктерін толық қанағаттандыру үшін әлі де жеткіліксіз [9].

Қытайбұршақты өзін-өзі қамтамасыз етуіне қол жеткізу үшін, оның жаңа жоғары өнімді сорттарды өсіру

арқылы арттыру қажет [10]. Мұндай сорттардың дамуына әртүрлі әдістерді қолдану арқылы қол жеткізуге болады, соның ішінде жасанды будандастыру, мутация индукциясы [11], жергілікті сорттарды тазарту [12,13], сондай-ақ енгізілген сорттарды пайдалану [14].

Қытайбұршақтың генетикалық әртүрлілігі мен құрылымын түсіну жоғары өнімді және жақсы бейімделген сорттарды өсіруге және анықтауға бағытталып, селекциялық бағдарламаларды әзірлеуге ықпал етуі мүмкін, бұл өз кезегінде өнімділік пен өндіріс көлемін арттырады. Генетикалық әртүрлілікті талдаудың ең көне және кеңінен қолданылатын әдістерінің бірі - ауылшаруашылық өсімдіктерінің таксономиялық байланысының және агрономиялық құндылығының ең жақсы көрсеткіші болып саналатын фенотиптік белгілерді бағалау [15]. Мұндай тәсілдердің қолайлылығына қарамастан, олар әрдайым жеткілікті ақпараттылыққа ие бола бермейді, әсіресе белгілер генотип пен қоршаған ортаның өзара әрекеттесуіне қатты әсер ететін жағдайларда. Бұл жағдай ғалымдарды ДНҚ маркерлерін қолдана отырып талдау сияқты басқа әдістерді жасауға алып келді [16,17]. Молекулалық маркерлер селекциялық бағдарламалар шеңберінде фенотиптік сипаттаманы толықтыра алатын сенімді генетикалық құралдар болып табылады [16]. Соңғы онжылдықтарда генетикалық әртүрлілікті анықтау үшін қолданылатын маркерлер көптеген эволюциядан өтті.

ДНҚ маркерлерінің дамуы әртүрлі ауылшаруашылық түрлерінің арасындағы және ішіндегі генетикалық әртүрлілікті түсіну үшін өте маңызды, өйткені олар жеке түрлер арасындағы нуклеотидтер тізбегіндегі айырмашылықтарды көрсетеді және сыртқы ортаға тәуелді емес [18]. Қытайбұршақ генофондындағы генетикалық



Сурет 1. Қытайбұршақ үлгілерін шыққан еліне байланысты бөлу (n.a – ақпарат жоқ)

әртүрлілікті бағалау үшін молекулалық маркерлердің әртүрлі түрлері қолданылды, мысалы, кездейсоқ күшейтілетін полиморфты ДНҚ (RAPD), қарапайым қайталанатын тізбектер (SSR), экспрессияланған EST-SSR тізбектері, күшейтілген фрагмент ұзындығының полиморфизмдері (AFLP) және бір нуклеотидті полиморфизмдер (SNP) [19].

SNP маркер молекулалық маркерлердің маңыздыларының бірі болып саналады, өйткені олар қайталанатын мутациялардың төмен жылдамдығымен сипатталады, сондықтан эволюциялық тұрғыдан тұрақты, олар күрделі белгілердің генетикалық негізін талдау және геномдық эволюция процестерін зерттеу үшін ең қолайлы [20]. Дегенмен, ауылшаруашылық дақылдарының генетикалық әртүрлілігін бағалау үшін SNP маркерлерін пайдалану мүмкіндігіне қарамастан, олардың ақпараттық сыйымдылығы, биаллельдік табиғаты және жоғары құны үшін SSR маркерлерімен салыстырғанда олар азырақ қолайлы [21].

SSR маркерлері гендерді сипаттауда, генетикалық әртүрлілікті талдауда және генетикалық карталарды құруда кеңінен қолданылады. Бұл маркерлер әсіресе генотиптерді саралау, шыққан тегін талдауда, генотиптер арасындағы генетикалық қашықтықты бағалау және сорттарды анықтау үшін пайдалы, өйткені олар геном бойынша біркелкі таралған, полиморфтылықтың ақпараттық мәні (PIC) және жоғары өнімділігі бар қысқа тандемдік қайталаулардан тұрады [22].

DarT, SNP және SSR көмегімен қант қызылшасының генетикалық әртүрлілігін салыстырмалы зерттеу нәтижелері бойынша SSR маркерлерінде олардың жоғары полиморфтылығына байланысты ең жоғары тиімділік байқалғанын көрсетті [23]. Сонымен қатар басқа зерттеулерде генетикалық әртүрлілікті бағалауда және қытайбұршақ үлгілері арасында байланыс орнатуда SSR маркерлерінің жоғары тиімділігін растады [24].

Генетикалық әртүрлілікті бағалау қазіргі заманғы селекциялық және популяциялық генетиканың негізгі құралдары болып табылады. Олар сорттарды, линиялар мен будандарды анықтауға, тұқым мен отырғызу материалының түпнұсқалығын растауға, гомо - және гетерозиготалық деңгейін бағалауға, ата-аналық фоомаларды таңдау үшін маркерлердің полиморфизмін анықтауға, генетикалық карталар мен генофонд дерекқорларын қалыптастыруға, генетикалық әртүрлілік пен интрогрессияны бақылауға мүмкіндік береді. Бұл әдісті қолдану гетерозис әсерін алу және жаңа жоғары өнімді сорттарды құру, генофондты бақылау және сақтау, генетикалық эрозияның алдын алу, зияткерлік меншікті қорғау, коллекциялардағы үлгілерді анықтау және жіктеу, сонымен қатар сирек және жойылып кету қаупі төнген түрлерді сақтау үшін пайдаланылады. Осы орайда бұл зерттеу жұмысының мақсаты – SSR маркерлерінің пайдалана отырып, қытайбұршақтың генетикалық әртүрлілігін бағалау, күтілетін генетикалық параметрлерін анықтау, кластерлік талдау жасау.

ЗЕРТТЕУ НЫСАНЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

Зерттеу нысаны. Қытайбұршақтың генетикалық әртүрлілігін зерттеу бойынша жұмыстар Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми зерттеу институты (әрі қарай ҚазЕжӨШҒЗИ), Өсімдіктер биотехнологиясы зертханасында жүргізілді. Зерттеу үшін ҚазЕжӨШҒЗИ, Майлы дақылдар бөлімінің генофондынан қытайбұршақтың 188 үлгісінен, яғни сорттар мен селекциялық линиялардан тұратын коллекциясы ұсынылды. Бұл коллекция әлемнің 22 елінен жинақталған (сурет 1).

ДНҚ экстракциясы мен ПТР амплификациясы. Қытайбұршақтың геномдық ДНҚ-ны оқшаулау үшін Doyle мен Doyle (1987) сипаттаған цетилтриметиламмоний бромиді (СТАВ) әдісін [25] қолдана отырып, жаңа жас жапырақтар қолданылды. Геномдық ДНҚ тұндыру үшін салқындатылған изопропанол, ал оны жуу үшін натрий

және аммоний ацетатын мен 96 % этанол спирті қосылған ерітіндісі пайдаланылды. Алынған және тұндырылған ДНҚ RNase A(10 мг/мл) 37°C 30 минут ішінде өңделді. Алынған ДНҚ стерильді және құрамында нуклеазы жоқ суда ерітілді. ДНҚ сапасы мен концентрациясын өлшеу Nano Drop One^c (Thermo Scientific) құрылғысын пайдалану арқылы жүргізілді.

Ғылыми мақалалар мен әдебиеттерден қытайбұршақ үлгілері арасындағы генетикалық әртүрлілікті бағалау үшін полиморфты деп іріктеліп алынған 15 SSR-маркері пайдаланылды (кесте 1).

Кесте 1. Осы зерттеуде пайдаланылған микросателлиттік (SSR) маркерлердің сипаттамалары

Полимеразды тізбекті реакция (әрі қарай ПТР) үшін 15 мкл реакциялық қоспасы дайындалды, оның құрамында: 1 мкл (50 нг) зерттелетін ДНҚ, 1,5 мкл реакция буфері (10× TagBuffer KCl), төрт дезоксинуклеотидтен 0,75 мкл dNTP (4 mM) қоспасы, 250 мкМ праймер, 1,32 мкл MgCl₂ (25 mM), 0,15 мкл Taq-полимеразалар (5 бірлік/мкл) (Biosan LLC, Новосибирск, Ресей), 9,28 мкл стерильді және құрамында нуклеазы жоқ су (Биолабмикс, Ресей). ПТР талдауын жүргізу үшін Eppendorf Mastercycler Pro (Германия) классикалық амплификаторы пайдаланылды. ПТР үшін температуралық режимдері ғылыми әдебиеттерге сәйкес

SSR маркерлер	Хромосома	Мотив түрі	Праймер тізбегі (5'→3')	Дереккөздер
Satt157	2	(AAT)31	F: GGGCTCACTCTCGATAGTAGGTATAAAG R: GGGATACCAAAAGGAATAATAGTCTT	Cregan et al. 1999 [26]
Satt163	-	(TTA)12	F: AATAGCACGAGAAAAGGAGAGA R: GTGTATGTGAAGGGGAAAAACTA	Gerardo Domingo
Satt385	5	(ATA)23	F: AATCGAGGATTCACTTGAT R: CATTTGGGCCACACAACAAC	Lucio Cervigni 2004[27]
Satt608	10	(TTA)18	F: GCGGGATCACATAATGATCTTTATAGA R: GCGCTATCATCAATGCAATGGGATTTA	Cregan et al. 1999[26]
Satt100	6	(TTA)13	F: ACCTCATTTTGGCATAAA R: TTGGAAAACAAGTAATAATAACA	
Satt181	12	(AAT)19	F: TGGCTAGCAGATTGACA R: GGAGCATAGCTGTTAGGA	Khatab I.A. et.al 2016[28]
Satt706	15	(AAT)23	F: GCGTTTTTTTCCCAACAATTAATTAG-TATAT R: GCGAAATGGTTATTATTGTTA-AAAAATAATG	Rani R. et.al.,2023[29]
Satt373	19	(TAT)21	F: TCCGCGAGATAAATTCGTAAAAT R: GGCCAGATACCCAAGTTGTACTTGT	
Satt001	9	(ATT)24	F: TGTGCAATGATAGTACATAGATAT R: GTGCTGATTGAACTATTGTAGT	Kujane K. et.al., 2019[30]
Satt005	2	(TTA)21	F: TATATCCTAGAGAAGAATAAAAAA R: GTCGATTAGGCTTGAAATAATAC	
satt249	16	(AAT)20	F: GCGGCAAAATTGTTATTGTGAGAC R: GGCCAGTGTTGAGGGATTAGA	Ghimire N.H. et.al., 2024[31]
satt276	5	(TAT)19	F: GCGGACGGTAAGGACTATTTATGATA R: GCGTCAGATGAAAAAAAATAAGATAC	
soy-satt-173	-	(ATA)13	F: CCAAGCGAAATCACCTCCTCT R: CCGGTCCAATCTTTATTCAAAC	
Satt185	15	(TTA)29	F: CATATGAATAGGTAAGTTGCACT R: TGTCACATATAATGGTACCTATTA	Mazkirat Sh., 2023[10]
Satt409	8	(TTA)15	F: CCTTAGACCATGAATGTCTCGAAGATA R: CTTAAGGACACGTGGAAGATGACTAC	

*Екепты: SSR: Simple Sequence Repeats; F: forward; R: reverse

жүргізілді(кесте 1).

Алынған ПТР өнімдерінің амплификациясы 8% полиакриламид геледе 1xTBE – буферін 200 В-пен 1 сағат электрофорез әдісі арқылы жүргізілді. Ал жолақтарды бейнелеу үшін этидий бромиді қосылған ерітінді пайдаланылды, содан кейін алынған электрофореграммаларды құжаттау QUANTUM ST4 (Франция) геле құжаттамасының көмегімен жүргізілді. «Step50 plus» ДНК маркері («Биолабмикс» ЖШҚ, Новосибирск, Ресей) молекулалық массаның маркері ретінде пайдаланылды.

SSR аллельдерін бағалау және деректерді талдау.

Әрбір генотипте SSR фрагментінің болуы немесе болмауы барлық полиморфты SSR праймерлері үшін тіркелді. Ампликонның мөлшері маркердің молекулалық салмағына қатысты жолақтардың қозғалғыштығына байланысты анықталды.

Қытайбұршақ үлгілерінің негізгі генетикалық көрсеткіштерін есептеу үшін кодоминантты генотип форматындағы SSR маркерлерінің деректері пайдаланылды. Деректерді дайындау барысында, әрбір үлгі мен локус үшін аллель1/аллель2 форматындағы аллель жұбы көрсетілген. Келесідей негізгі генетикалық көрсеткіштері: аллельдер саны (N_a – number of alleles), тиімді аллельдер саны (number of effective alleles – N_e) (Kimura and Crow, 1964) [32], Шеннон индексі (Shannon's information index – I) (Lewontin, 1972) [33], бақыланатын гетерозиготалық (observed heterozygosity – H_o), күтілетін гетерозиготалық (expected heterozygosity – H_e) бекіту индексі (Fixation index – F) анықтау үшін қытайбұршақ үлгілеріне SSR маркерлерін қолдана отырып, *GenAlEx 6.51b2* (Excel-дегі генетикалық талдау) (Peakall & Smouse, 2012) [34] компьютерлік бағдарламалық жүйесі көмегімен есептелді.

Полиморфтылықтың ақпараттық мәні (*PIC-polymorphism information content*) белгілі аллельдердің санына және олардың жиіліктерінің таралуына байланысты маркердің дискриминациялық қабілетін көрсетеді, яғни ол генетикалық әртүрлілікті бағалаудың аналогы болып табылады. Ол Botstein et al. [35] формула 1 бойынша есептелді.

$$PIC = 1 - \sum p_i^2 - \sum \sum p_i^2 p_j (1)$$

мұндағы p_i және p_j популяциядағы жиіліктерді, ал i және j – аллельдердің білдіреді. Бірінші сумма аллельдердің жалпы санынан алынады, ал келесі екінші сумма барлық i және j жұптарын қамтиды, мұндағы $i \neq j$.

Кесте 2 – 188 қытайбұршақ генотипіндегі әрбір локус үшін алынған генетикалық әртүрлілік параметрлерін бағалау.

Қытайбұршақ үлгілерінің генетикалық әртүрлілігіне кластерлік талдау жүргізу үшін полиморфты SSR маркерлерінің деректері негізінде екі филогенетикалық дендрограмма (ағаш) жасалынды. Бірінші дендрограмма *Neighbor-Joining (NJ)* әдісімен жасалынды. Дендрограмманы құру үшін аллельдердің бинарлық матрицасы құрылды (0 – аллельдің болмауы, 1-аллельдің болуы), оған сәйкес қарапайым сәйкестік коэффициентіне негізделген генетикалық қашықтық матрицасы есептелді (*Simple Matching Coefficient*). Алдымен бинарлық аллель матрицасы мен есептелген генетикалық қашықтық матрицасы негізінде PAST бағдарламасында (<https://www.nhm.uio.no/english/research/infrastructure/past/>) *NJ* ағашы алынды. Содан кейін ағаш топологиясы бар файл *Newick* форматында экспортталды (.nwk) және визуализация және безендіру үшін *FigTree* (1.4.4 нұсқасы) (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) бағдарламасы қолданылды. *FigTree* үлгі атауларын, бұтақ ұзындықтарын және кластерлердің түстерін белгілеу үшін пайдаланылды. Екінші дендрограмма PAST (4.02 нұсқасы) бағдарламасында *UPGMA* (*Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean*) әдісімен жасалынды.

ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ МЕН ТАЛҚЫЛАУ

Микросателлиттік (SSR) маркерлердің полиморфизмі және аллельдік әртүрлілігі.

Қытайбұршақтың 188 генотипі бойынша әрбір локус үшін алынған күтілетін генетикалық әртүрлілік параметрлерінің нәтижелері 2-кестеде келтірілген. Пайдаланылған 15 SSR праймер жұбының барлығы полиморфты жолақтар берді. Барлығы 55 аллель анықталды, барлық генотиптер арасында бір локуста орташа саны 2,68 аллель болды. Осы 55 аллельдің фрагменттерінің мөлшері 120 жұп нуклеотидтен 400 жұп нуклеотидке дейін өзгерді. Satt276 маркері ампликондардың ең үлкен диапазонын көрсетті (300-ден 400 ж.н.), ал Satt100 маркері ең кіші диапазонға ие болды – 120-дан 180 ж.н. Қолданылған маркерлермен анықталған микросателлит аллельдерінің саны екіден - алты аллельге дейін өзгерді. Satt409 және Satt185 маркерлері аллельдердің ең көп санын берді (6 және 5 аллельден сәйкесінше), ал Satt385 және Satt249 маркерлері 2-кестеде көрсетілгендей және электрофорез нәтижелеріне сәйкес (сурет 2) келетін аллельдердің ең аз санын (2 аллель 300-340 ж.н. пен 245-260 ж.н. сәйкесінше) көрсетті.

Маркер	Аллель диапазоны, жұп нуклеотид	N_a	N_e	I	H_e	uH_e	PIC
Satt157	200-350	4	2,94	1,18	0,66	0,66	0,66
Satt163	235-250	3	1,75	0,76	0,43	0,43	0,43
Satt100	120-180	4	2,79	1,17	0,64	0,64	0,64
Satt249	245-260	2	1,65	0,59	0,40	0,40	0,41
Satt385	300-340	2	1,55	0,54	0,35	0,35	0,35
Satt276	300-400	4	2,98	1,18	0,66	0,67	0,67
Satt181	200-250	3	2,54	0,99	0,61	0,61	0,60
Satt608	150-190	3	2,99	1,10	0,67	0,67	0,67
Satt706	250-300	4	3,17	1,26	0,69	0,69	0,69

Satt373	240-300	4	3,09	1,23	0,68	0,68	0,68
Satt409	155-210	6	3,89	1,48	0,74	0,75	0,74
Satt001	160-200	4	2,82	1,16	0,65	0,65	0,64
Satt005	160-200	4	3,22	1,26	0,69	0,69	0,69
SoySatt173	150-200	3	2,40	0,98	0,58	0,59	0,59
Satt185	200-250	5	2,39	1,13	0,58	0,58	0,63
Average	-	2,68	1,07	0,60	0,60	0,61	0,61

Тиімді аллельдер саны (Ne) 1,55 (Satt385) мен 3,89 (Satt409) аралығында болды, бұл аллель жиіліктерінің локустар бойынша біркелкі таралуындағы айырмашылықтарды көрсетеді.

Аллельдердің санын да, таралуын да ескеретін Шеннон (I) индексі 0,54-тен 1,48-ге дейін болды, ең үлкен мән Satt409-да байқалды, бұл әртүрліліктің жоғары деңгейін көрсетеді. Барлық маркерлер бойынша бақыланатын гетерозиготалық (Ho) 0,000 құрады, бұл барлық локустар бойынша зерттелетін үлгілердің толық гомозиготалығын көрсетеді. Бұл бірнеше рет өздігінен тозаңданудан және генотипті тұрақтандырудан өткен селекциялық үлгілерді пайдаланудан туындауы мүмкін. Күтілетін гетерозиготалық (He) 0,35-тен (Satt385) 0,74-ке (Satt409) дейін өзгерді, нөлдік Ho-дағы жоғары He мәндері барлық локустар бойынша максималды бекіту коэффициентінің мәндерін ($F = 1,000$) анықтайды, бұл айқын гомозиготалықтың болуын және мүмкін жоғары инбридинг дәрежесін растайды.

3-кестеде 20 қытайбұршақ үлгісінің 15 полиморфты SSR-маркерін қолдану арқылы жүргізілген генотиптеу нәтижелері келтірілген. Әрбір маркер өзінің атауымен Кесте 3 – 15 SSR-маркерлерін қолдану бойынша 20 үлгінің генотиптеу нәтижелері

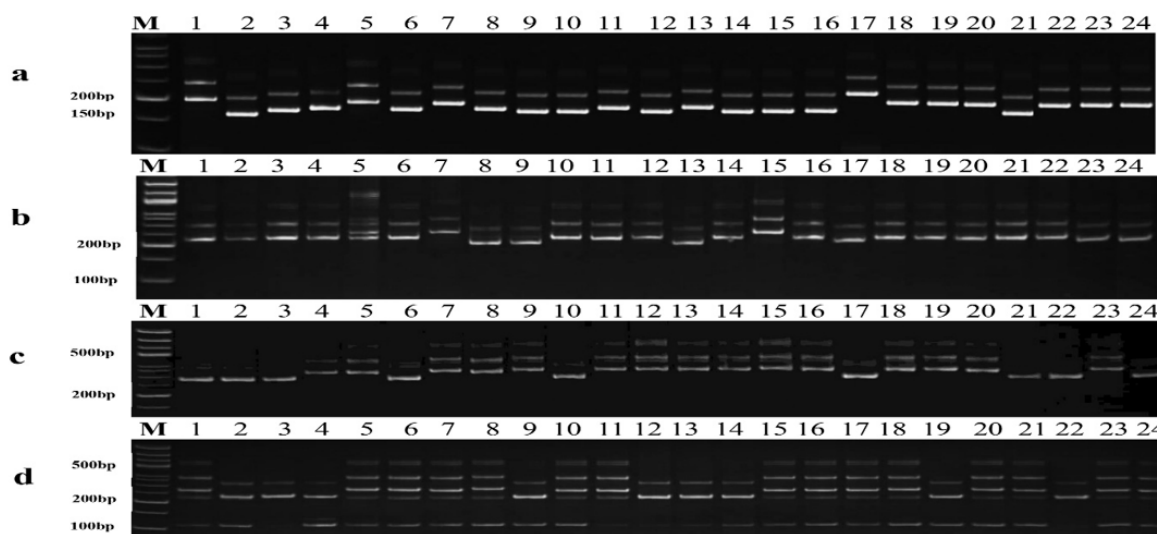
белгіленген (мысалы, *Satt157*, *Satt163*, *Satt100* және т.б.), ал жолдарда нақты үлгілер көрсетілген (*Rusiya*, *Seve-siyan*,

Svetlyach, *Kras-mecha*, *Daneliya* және т.б.). Кестедегі мәндер ПТР әдісі арқылы арнайы праймерлерді пайдаланып алынған амплификацияланған аллельдердің өлшемдерін (жұп нуклеотидпен) білдіреді. Ұсынылған деректер фрагменттердің ұзындығындағы айырмашылықтарды және зерттелген үлгілер арасындағы SSR-маркерлерінің полиморфизм деңгейін анықтауға мүмкіндік берді.

Алынған генотиптік деректер негізінде кейіннен UPGMA және Neighbor-Joining әдістерін қолдану арқылы дендрограммалар құрылып, қытайбұршақ үлгілерінің арасындағы филогенетикалық байланыстар мен генетикалық туыстық дәрежесі талданды.

Полиморфты ақпараттық мәні (PIC) 0.35-тен 0.74-ге дейін өзгерді. Ең жоғары мән Satt409-те байқалды (PIC = 0.74) негізгі 6 аллельмен, ал Satt385 2 аллельмен PIC (0.35) ең төменгі мәнін көрсетті. Ғылыми деректерге сәйкес, PIC > 0,5 маркерлері жоғары ақпараттық болып саналады. Осылайша, зерттелген 15 маркердің 12-сі жоғары ақпараттылықты көрсетті, бұл оларды молекулалық се-

Үлгі атауы	SSR – маркерлер, жұп нуклеотид														
	Satt 157	Satt 163	Satt 100	Satt 249	Satt 385	Satt 276	Satt 181	Satt 608	Satt 706	Satt 373	Satt 409	Satt 001	Satt 005	Soysatt 173	Satt 185
Rusiya	275	255	145	260	340	350	245	170	250	250	200	191	200	165	230
Seve-siyan	275	255	180	260	340	350	200	170	260	250	155	191	170	203	230
Svetlyach	250	255	180	245	340	345	200	150	260	250	170	191	200	203	225
Kras-mecha	250	255	145	260	300	350	245	170	260	250	175	191	200	150	234
Daneliya	250	255	145	260	340	300	245	150	260	250	192	191	200	165	234
Ustya	250	255	145	245	340	400	200	190	300	250	192	191	200	203	234
Pripyat	250	255	145	260	340	300	245	150	260	250	175	191	200	165	230
Ivushka	200	255	180	260	340	350	245	150	260	240	192	191	170	203	225
Birlik	250	235	150	260	340	400	245	150	260	240	175	191	200	203	255
Bayan	275	235	145	260	300	350	200	170	268	240	170	191	200	150	230
Vost-krasav	350	255	120	245	340	345	200	170	268	250	175	191	200	203	230
Alua	275	255	150	245	340	400	200	170	260	240	170	172	200	165	230
Almaty	250	235	150	245	340	400	200	150	260	250	175	160	179	203	237
Iskra	275	255	150	260	340	345	245	150	250	240	170	200	200	203	237
Misula	275	255	150	260	340	300	200	190	260	240	170	160	170	203	225
Zara	275	255	180	245	340	300	200	170	260	250	170	191	170	165	237
Zhalpak	250	255	150	260	340	400	245	150	300	240	200	200	170	203	237
Roza	350	255	180	260	340	300	200	150	268	300	175	172	170	203	230
Pam-YUGK	275	255	180	260	340	345	245	150	260	255	175	191	160	203	237
Kyeshuan	275	255	180	260	340	400	245	170	300	250	175	191	200	203	230



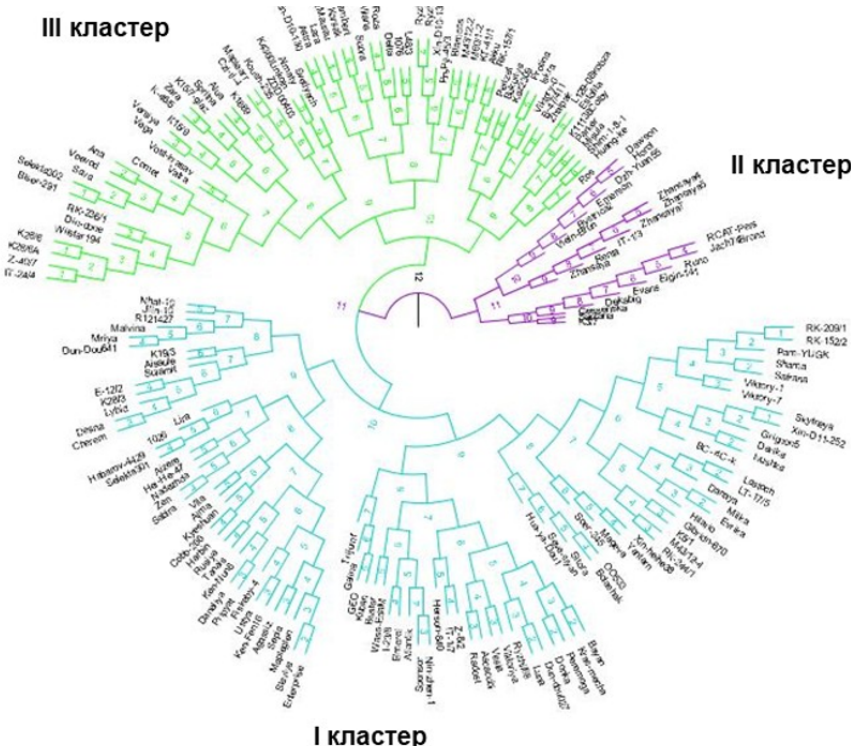
Сурет 2. SSR-маркерлер көмегімен алынған электрофорез деректері: а – Satt409, б – Satt185, с – Satt385, д – Satt249; M- Step 50 plus ДНҚ маркерінің молекулалық массасының маркері;
1-24 қытайбұршақ генотиптері.

лекция мен генетикалық әртүрлілікті бағалауда кеңінен қолдануға ықпал етеді.

Алынған нәтижелерді басқа зерттеулердің деректерімен салыстыру байқаған заңдылықтарды растайды. Rani et al. (2023) SSRмаркерлердің жоғары әртүрлілік қабілетін көрсетті ($PIC = 0,44-0,51$), байқалатын гетерозиготтылықтың төмен деңгейін ($H_o = 0,02$), күтілетін гетерозиготтылықтың орташа мәнін ($H_e = 0,51$) анықтады, бұл популяциялар ішіндегі жоғары біртектілікті және әлсіз аралық популяциялық құрылымды білдіреді. Silue et al. (2025), керісінше, неғұрлым айқын аралық генотиптік әртүрлілікті көрсетті ($H_o \approx 0,11$; $H_e \approx 0,34$).

Қазақстандық қытайбұршақ коллекциясын зерттеу [36] аймақаралық жоғары әртүрлілікті растайды: PIC 0,73ге дейін жетеді, бұл адаптивтік тұрғыдан құнды генотиптердің бар екенін көрсетеді және оларды селекция бағдарламаларына енгізудің негізділігін дәлелдейді. Ұқсас заңдылықтар осы зерттеуде де байқалды: үлгілердің толық гомозиготтылығы жағдайындағы PIC және H_e жоғары мәндері коллекцияның будандастыру мен молекулалық сұрыптау үшін бірегей әрі генетикалық тұрақты линиялардың көзі ретінде құндылығын дәлелдейді.

Қытайбұршақ генотиптерін кластерлік талдау нәтижелері. Neighbor - Joining әдісімен салынған филогенетикалық ағаш



Сурет 3. Қытайбұршақтың 188 генотипінің топтасу құрылымын көрсететін Neighbor-joining (ең жақын көрші) әдісімен салынған филогенетикалық ағаш

нетикалық ағаш (сурет 3), қытайбұршақ генотиптері арасындағы генетикалық қатынастарды бейнелейтін 15 SSR-маркерлерімен анықталған аллельдер негізінде құрылды. Үлгілер арасындағы генетикалық қашықтық *Jaccard* коэффициентімен есептелді. Кластерлеу нәтижесінде барлық генотиптер 3 негізгі макрокластерге бөлінсе, өз кезегінде олардың әрқайсысы әртүрлі генетикалық жақындық дәрежесі бар қосалқы 2 кластерге топтастырылды.

SSR маркерлеріне негізделген кластерлік талдау нәтижелері бойынша алынған ең үлкен I кластер зерттелген 188 қытайбұршақ үлгілерінің 98-ін біріктірді және екі қосалқы кластерге бөлінді (сурет 4). Бұл нәтиже коллекцияның едәуір бөлігінің генетикалық байланысының жоғары дәрежесін көрсетеді және жалпы шығу тегі мен жақын селекциялық линиялары бар үлгілерге тән. Бірінші қосалқы *I-a кластерге* (сурет 4 – оң жақ бөлігі) Nhat-10-дан (Жапония) Enterprise-ге (Канада) дейінгі үлгі кіреді, олар негізінен Шығыс Азия мен Шығыс Еуропа шыққан үлгілермен біріктірілген. Географиялық таралуы туралы айтатын болсақ, онда бұл кластердегі үлгілер Шығыс Азия: Жапония (1), Қытай (7), Корея (1), Шығыс Еуропа: Украина (7), Ресей (5), Беларусь (1), Молдова (1), Қазақстан (10), Батыс Еуропа: Швеция (1), Швейцария (1), Франция (1), Польша (1), Солтүстік Америка: АҚШ (2), Канада (2) жинақталған. Бұл қосалқы I-a кластердің үлгілері Шығыс Азия мен Шығыс Еуропа линияларының тығыз байланысын көрсетеді, бұл олардың ортақ шығу тегі жақын екенін көрсетеді. Қазақстандық үлгілер ішкі кластерде біркелкі біріктірілген, бұл олардың кейіннен жергілікті бейімделуімен енгізілген линиялардан шыққанын көрсетеді. Ал Канада мен АҚШ үлгілері (мысалы, Enterprise, Cobb-266) азиялық және шығыс еуропалық үлгілермен бір қосалқы кластерде болуы Еуразияның селекциялық бағдарламаларында Солтүстік Америка генофондының көпжақты қолданылуын көрсетеді. Екінші қосалқы *I-b кластер* (сурет 4 – сол жақ бөлігі) Trijumb (Сербия) RK-209/1 (Қазақстан) дейінгі үлгілерді қамтиды және қазақстандық үлгілердің (мысалы, RK-244/1, M43/12-4, Ram-YUGK және т.б.) ең көп шоғырлануымен сипатталады. Географиялық таралуына байланысты: Шығыс Азия: Қытай (7), Жапония (1), Шығыс Еуропа: Украина (4), Ресей (5), Молдова (2), Сербия (1), Тәжікстан (1), Қазақстан: 20-дан астам сорт, Батыс Еуропа: Франция (4), Италия (4), Солтүстік Америка: Канада (2), Канада-Украина (1) генотиптері бар. Шығыс Азия үлгілері (Қытай, Жапония) кластердің өзегін құрайды, бұл олардың Еуразиядағы бейімделген үлгілерді өсіру үшін бастапқы материал ретіндегі рөлін көрсетеді. Батыс еуропалық және канадалық генотиптердің болуы континентальды климатқа төзімді сорттарды жасау кезінде шетелдік генофондты пайдалануды көрсетеді.

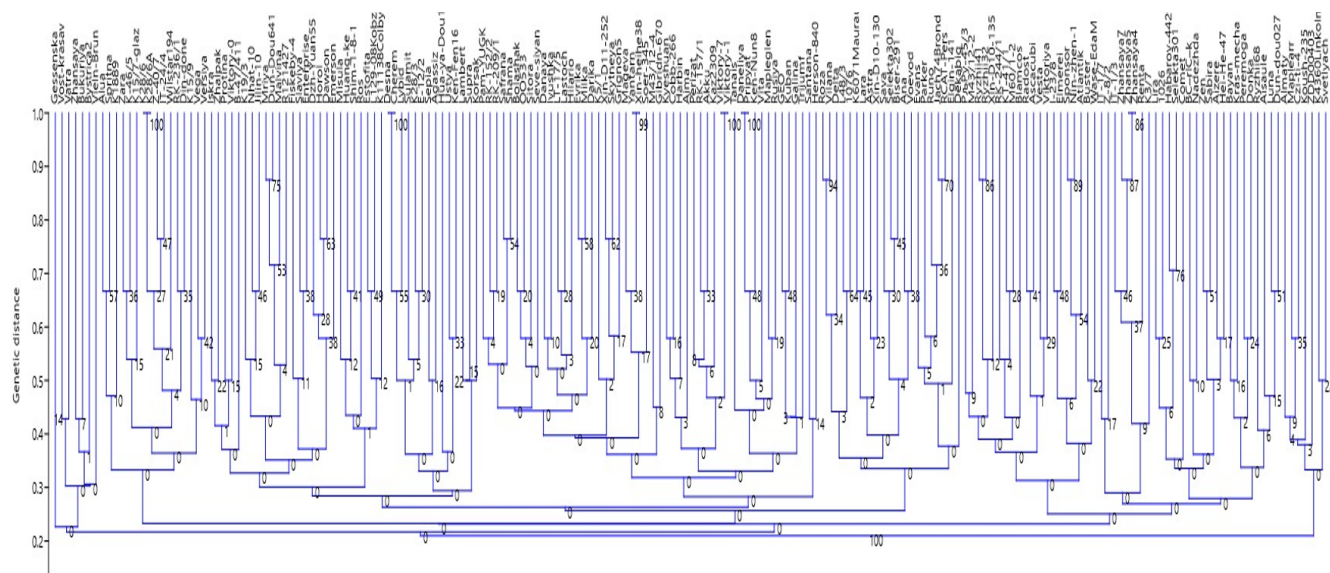
SSR маркерлеріне негізделген қытайбұршақ генотиптерін кластерлік талдау нәтижесінде алынған II кластер (сурет 4) зерттелген нысанның ішінде ең аз үлгілерді қамтыған (21 үлгі). Бұл кластер жоғары генетикалық ерекшелігімен ерекшеленеді және үлгілердің шығу тегі мен селекциялық тарихындағы айырмашылықтарды көрсететін екі қосалқы кластерге бөлінген. Бірінші қосалқы *II-a кластері* K3/7 (Қазақстан) бастап RCAT-Pers (Канада) аяқталатын 9 генотипті біріктіреді. Үлгілердің географиялық шығу тегі бойынша Қазақстандық - 1 (K3 /

7), Солтүстік Американың - 5 үлгісін және Еуропаның - 3 үлгісін (Франция, Румыния, Ресей) біріктіреді. Мұнда 9 үлгінің 5-і американдық шыққан, бұл жалпы генетикалық ядроны көрсетеді. Екінші қосалқы *II-b кластерге* Zhansaya (Қазақстан) бастап Dawson (АҚШ) дейінгі 12 генотип кіреді. үлгілердің шығу тегіне байланысты Қазақстан - 5 (Zhansaya, IT-1/3, Zhansaya7, Zhansaya5, Zhansaya4), Шығыс Еуропа - 4 (Ресей: Renta, Bystrica2; Украина: Horol; Венгрия: Vieln-Brun), Қытай-1 (Dzh-Yuan55), Солтүстік Американың (АҚШ: Dawson, Канада: Emerson) - 2 үлгісін біріктіреді.

III кластер (сурет 4,) зерттелген 188 қытайбұршақ генотипінің 69-ын қамтиды және көлемі бойынша I және II кластерлер арасында аралық орынды алады. Ол екі қосалқы кластерге бөлінеді, олар айқын аймақтық ерекшеліктерді көрсетеді және бастапқы материалдың шығу тегіндегі айырмашылықтарды көрсетеді. Бірінші қосалқы III-a кластер Ros (Беларусь) - Акку (Қазақстан) үлгілерді біріктіреді, барлығы 18. Олар, Қазақстандық - 9, Шығыс Еуропаның - 5 (Беларусь, Украина, Молдова, Франция), Шығыс Азияның - 2 (Қытай, Жапония), Солтүстік Американың - 2 үлгісі (АҚШ, Канада). Екінші қосалқы III-b кластерге KT-41/1 (Қазақстан) бастап IT-24/4 (Қазақстан) дейінгі үлгілер, барлығы 51 генотип кіреді. Қазақстандық - 19, Шығыс Еуропаның - 12 (Ресей, Украина, Латвия, Болгария), Шығыс Азияның - 9 (Қытай, Жапония, Корея), Батыс Еуропа - 5 (Италия, Сербия), Солтүстік Америка - 6 үлгісі (АҚШ, Канада).

Дендрограммадағы кластерлердің тереңдігі мен бұтақтардың ұзындығы үлгілер арасындағы генетикалық қашықтықтың әртүрлі дәрежесін көрсетеді. Көптеген генотиптер бір кластерлерге топтасқан, бұл аймақтық селекциялық бағдарламалар шеңберінде генетикалық қордың тарылғанын білдіреді. Қазақстандық үлгі барлық үш кластерде шешуші рөл атқарады: біріншісінде-генетикалық көпір ретінде, екіншісінде – жергілікті селекцияның өзегі ретінде, үшіншісінде - көп орталықты пулдың орталық компоненті ретінде. Шығыс Азия үлгілері (Қытай, Жапония) жергілікті сорттарды жасауда белсенді қолданылатын ерте пісетін және төзімділіктің негізгі доноры болып табылады. Солтүстік Американың генотиптері кластерлерде перифериялық позицияны алып, жоғары өнімділік көздерінің рөлін атқарады. Қосалқы кластерлерге бөлу Қазақстанда қазіргі заманғы қытайбұршақ генофондын қалыптастыруға тән интродукция, будандастыру және жергілікті бейімделу кезеңдерін көрсетеді.

SSR маркерлерінің бинарлық деректері негізінде 22 елден жинақталған 188 қытайбұршақ генотипі арасындағы генетикалық байланыстарды көрсететін UPGMA (Unweighted Pair Group Method With Arithmetic Mean) әдісін қолдана отырып дендрограмма жасалынды. Кластерлік талдау генотиптер арасындағы байланысты анықтау мақсатында жүргізілді және сәйкес дендрограмма 4-суретте көрсетілген. Дендрограмма генотиптердің бірнеше кластерлерге нақты бөлінуін көрсетеді, бұл зерттелген үлгілер арасында айтарлықтай генетикалық гетерогенділіктің болуын көрсетеді. Кластерлер арасындағы айырмашылықтардың жоғары дәрежесі генетикалық қашықтық шкаласымен расталады (Genetic distance шкаласы бойынша 0.2-ден 1.0-ге дейін), мұнда төменгі



Сурет 4 – 188 қытайбұршақ генотипінің кластерленуін көрсететін UPGMA әдісімен жасалған дендрограмма.

мәндер ұқсастықтың үлкен дәрежесін көрсетеді. Бұл әртүрлілікті бағалау және кейінгі селекциялық бағдарламалар барысында ата-аналық формаларды таңдау үшін SSR маркерлерін қолданудың тиімділігін растайды.

Генетикалық қашықтыққа негізделген кластерлік талдау нәтижесінде әртүрлі деңгейдегі қытайбұршақ генотиптерінің кластерлері бөлінді, бұл олардың генетикалық жақындығы мен әртараптандыру дәрежесін көрсетеді. 0.21 генетикалық қашықтық деңгейінде зерттелген қытайбұршақтың 188 үлгісі екі негізгі кластерге бөлінді (сурет 4). Бірінші кластер ең кіші болып табылады және Almaty бастап Svetlyach дейінгі 7 үлгіні ғана қамтиды, бұл олардың жоғары генетикалық жақындығын және ықтимал жалпы селекциялық шығу тегін көрсетеді. Бұл кластерде Шығыс Азиялық үлгілер басым. Екінші кластер қалған 181 үлгіні біріктіреді, бұл бірінші кластермен салыстырғанда айтарлықтай кең топшілік әртүрлілік пен маңызды генетикалық алшақтықты көрсетеді. Бұл кластердің ішінде Gessenska бастап Vlien-Brun дейін ұсынылған үлгілер коллекцияның негізгі бөлігінен айтарлықтай ерекшеленеді, негізінен Шығыс Еуропалық үлгілер басым және бұл өз кезегінде олардың ерекше генетикалық профилін растайды.

Генетикалық арақашықтық шегі 0.22-ге дейін ұлғайған кезде бір үлкен кластердің қалыптасуы байқалады, өз кезегінде ол бес айқын кіші кластерге бөлінген (сурет 4). Мұндай құрылым коллекцияның күрделі генетикалық ұйымдасуын көрсетеді: кластерлердің ішінде генетикалық жағынан жақын үлгілер топтасқаны байқалады, ал одан алшақ генотиптер жеке тармақтар құрап, жекелеген үлгілердің жоғары дивергенттілігін айқындайды. Солдан оңға қарай кластерлерді сипаттайтын болсақ, бірінші тұрған 16 үлгіні қамтитын бұл кластерде отандық сорттар басым (10 үлгі) болса, одан кейінгі тұрға кластерде Шығыс Еуропалық үлгілердің (14 үлгі) басымдығы байқалады, үшінші, бесінші тұрған кіші кластерлерде отандық сорттардың басымдығы байқалса, арадағы төртінші кіші кластерде Солтүстік Америкалық, Шығыс Еуропалық үлгілер топтасқан. Алынған нәтижелер генетикалық тұрғыдан бірегей генотиптерді анықтау және селек-

циялық бағдарламаларда ата-аналық формаларды іріктеу үшін маңызды болып табылады.

Қазақстандағы қытайбұршақтың қазіргі таңдағы селекциялық процессі генетикалық әртүрліліктің жоғары деңгейімен және полиэтникалық сипатымен ерекшеленеді. Жүргізілген кластерлік талдау жергілікті отандық генотиптердің генетикалық қашықтықтың төмен деңгейлерінде тығыз кластерлерді қалыптастыратынын көрсетті, бұл өз генофондының сақталуын көрсетіп, өз кезегінде шетелдік генотиптер - Шығыс Азия, Шығыс Еуропа, Солтүстік Америка және Батыс Еуропа селекциялық процеске белсенді интеграцияланғаны анықталды. Оларды селекциялық процессте кеңінен қолданылуы генетикалық базаны кеңейтуді, бейімделу әлеуетін арттыруды және абиотикалық стресске төзімді жаңа жоғары өнімді сорттарды алуды қамтамасыз етеді. Осылайша, Қазақстанда қытайбұршақ селекциясы жергілікті генетикалық ресурстарды сақтауды әлемдік генофондты белсенді пайдаланумен ұштастырады, бұл отандық сорттардың бәсекеге қабілеттілігін арттыруға ықпал етеді.

ҚОРЫТЫНДЫ

SSR-маркерлерін қолдана отырып жүргізілген зерттеу нәтижесінде қытайбұршақ үлгілерінің генетикалық әртүрлілігіне жан-жақты баға берілді. Полиморфты SSR локустарын қолдану генотиптер арасындағы айырмашылықтарды анықтауға және түршілік өзгергіштік деңгейін анықтауға мүмкіндік берді. Алынған деректерді талдау зерттелетін коллекцияның орташа генетикалық әртүрлілікпен сипатталатынын көрсетті, бұл жеке селекциялық бағдарламалардағы бастапқы генофондтың шектеулі ортасын, өзгергіштігі жоғары бірегей үлгілердің болуын да көрсетеді. Генетикалық қашықтық матрицасына негізделген дендрограммалар мен жүргізілген кластерлік талдау бірнеше негізгі кластерлерді бөліп көрсетуге мүмкіндік берді, бұл үлгілер ішінде белгілі бір генетикалық құрылымның болуын көрсетеді. Neighbor-Joining (NJ) ағаш 3 негізгі кластерді анықтады, олардың әрқайсысы екі қосалқы кластерге бөлінеді. Дәл осы молекулалық-генетикалық мәліметтерге сүйене отырып (UPGMA)

генетикалық қашықтықтың әртүрлі деңгейлерінде (0,21; 0,22;) 2 және 1 сәйкесінше негізгі кластер анықталды. Анықталған кластерлер ішінара үлгілердің географиялық шығу тегі мен селекциялық тарихына сәйкес келеді, бұл енгізу мен жергілікті бейімделудің қытайбұршақ генофондының қалыптасуына әсерін растайды. Жұмыста қолданылатын SSR маркерлері жоғары полиморфтылық қабілеті мен ақпараттылығын көрсетті, бұл оларды генетикалық әртүрлілікті зерттеуде және селекциялық бағдарламаларда одан әрі қолдану үшін ұсынуға мүмкіндік береді. Барлығы 55 аллель анықталды, бұл бір локусқа орта есеппен 2,68 аллельден келеді. Полиморфтылықтың ақпараттық көрсеткіші (PIC) 0,35 (Satt385)-тен 0,74 (Satt409) аралығында ауытқыды, орташа мәні 0,61 болды. Күтілетін гетерозиготалық (He) 0,35 (Satt385)-тен 0,74 (Satt409) аралығында өзгеріп, орташа мәні 0,60 құрады. Бұл маркерлерді пайдалану ауыл шаруашылық дақылдарының генетикалық базасын кеңейтуге, ата-аналық формаларды таңдау тиімділігін арттыруға және жаңа жоғары өнімді және стресске төзімді сорттарды құруға ықпал етеді. Осылайша, жүргізілген зерттеу қытайбұршақтың түрішілік өзгергіштігін бақылау және оның генетикалық ресурстарын сақтау және ұтымды пайдалану стратегиясын әзірлеу үшін ғылыми негізді қалыптастыру үшін SSR маркерлерін қолданудың тиімділігін растады.

ҚАРЖЫЛАНДЫРУ

Зерттеу жұмысы Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым комитетінің 217-бюджеттік бағдарлама аясында «Ғылымды дамыту», басымдық – «Өмір және денсаулық туралы ғылым» 2023-2025 жылдарға арналған гранттық қаржыландыру жобасының ЖТН АР19677163 «Қытайбұршақтың (*Glycine max* L.) молекулярлық-құрамды селекциясы үшін ассоциацияның толық геномдық талдауы (GWAS) негізінде құрғақшылыққа төзімділік белгісі бойынша SNP-маркерлерін әзірлеу» шеңберінде орындалды

МҮДДЕЛЕР ҚАҚТЫҒЫСЫ

Авторлар мүдделер қақтығысының жоқ екенін мәлімдейді.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Chander S., Garcia-Oliveira A.L., Gedil M., Shah T., Otusanya G.O., Asiedu R., Chigeza G. Genetic diversity and population structure of soybean lines adapted to sub-Saharan Africa using single nucleotide polymorphism (SNP) markers // *Agronomy*. – 2021. – Vol. 11(604)
- 2 Khojely D.M., Ibrahim S.E., Sapey E., Han T. History, current status, and prospects of soybean production and research in sub-Saharan Africa // *Crop. J.* – 2018. – Vol. 6. – P. 226–235. [CrossRef]
- 3 Lukanda M.M., Dramadri I.O., Adjei E.A., Arusei P., Gitonga H.W., Wasswa P., Edema R., Ssemakula M.O., Tukamuhabwa P., Tusiime G. Genetic Diversity and Population Structure of Ugandan Soybean (*Glycine max* L.) Germplasm Based on DArTseq // *Plant Mol. Biol. Rep.* – 2023. – Vol.41. -P. 417–426.
- 4 Sivabharathi R., Muthuswamy A., Anandhi K., Karthiba

L. Genetic Diversity Studies of Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] Germplasm Accessions using Cluster and Principal Component Analysis // *Legume Res.Int. J.* – 2023. – Vol. 1 (6).

5 Abebe A.T., Kolawole A.O., Unachukwu N., Chigeza G., Tefera H., Gedil M. Assessment of diversity in tropical soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) varieties and elite breeding lines using single nucleotide polymorphism markers // *Plant Genet. Resour.* – 2021. – Vol.19. – P. 20–28. [CrossRef]

6 Hymowitz T., Shurtleff W.R. Debunking Soybean Myths and Legends in the Historical and Popular Literature // *Crop Sci.* – 2005. – Vol. 45. – P. 473–476.

7 Walling J.G., Shoemaker R., Young N., Mudge J., Jackson S. Chromosome-level homeology in paleopolyploid soybean (*Glycine max*) revealed through integration of genetic and chromosome maps // *Genetics*. – 2006. – Vol. 172. – P. 1893–1900.

8. Mazkirat Sh, Babissekova D.I., Didorenko S.V., Kulakhmetova Zh.E., Bulatova K.M. Use of codominant protein and DNA markers in identification of F1 hybrid progenies in soybean // *Experimental Biology*. – 2023. – Vol. (95). – P. 84-94.

9 <https://ipad.fas.usda.gov/countrysummary/default.aspx?id=KZ>

10 Rahman S.U., McCoy E., Raza G., Ali Z., Mansoor S., Amin I. Improvement of soybean; a way forward transition from genetic engineering to new plant breeding technologies // *Molecular Biotechnology*. – 2023. – Vol.65. – P. 162-180. <https://doi.org/10.1007/s12033-022 00456-6>.

11 Tasma I.M., Yani N.P.M.G., Purwaningdyah R. Satyawan D., Nugroho K., Lestari P., Trijatmiko K.R. and Mastur M. Genetic diversity analysis and F2 population development for breeding of long juvenile trait in soybean // *Jurnal AgroBiogen*. – 2018. – Vol. 14(1). – P. 11-22.

12 Mawasid F.P. Syukur M., Trikoesoemaningtyas T., Wibisono, K. Evaluation to select tomato genotypes with big fruit and verification of genetic advance // *Current Applied Science and Technology*. – 2023. – Vol. 23(3). <https://doi.org/10.55003/cast.2022.03.23.004>.

13 Dama H., Aisyah S.I., Sudarsono S., Dewi A.K., Wibisono K. Identification, selection, and response of radiation induced towuti mutant rice (*Oryza sativa* L.) in drought stress conditions // *Atom Indonesia*. – 2022. – Vol. 48(2). – P. 107-114, <https://doi.org/10.17146/aij.2022.1198>.

14 Nugroho K., Terryana R.T., Reflinur N., Asadi N., Lestari P. The genetic diversity analysis of introduced soybean cultivars using microsatellite markers // *Informatika Pertanian*. – 2017. – Vol. 26(2). – P. 121-132, <https://doi.org/10.21082/ip.v26n2.2017.p121-132>.

15 Kujane K., Sedibe M.M., Mofokeng M.A. Assessment of genetic diversity among soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes making use of agromorphological based on nutritional quality traits // *Appl. Ecol. Environ. Res.* – 2021. – Vol. 19. – P.3703–3716. [CrossRef]

16 Teklu D.H., Shimelis H., Tesfaye A., Shayanowako A.I.T. Analyses of genetic diversity and population structure of sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm collections through seed oil and fatty acid compositions and SSR markers

// J. Food Compos. Anal. – 2022. – Vol. 110. – P. 104-545.

17 Chander S., Garcia-Oliveira A.L., Gedil M., Shah T., Otusanya G.O., Asiedu R., Chigeza G. Genetic diversity and population structure of soybean lines adapted to sub-Saharan Africa using single nucleotide polymorphism (SNP) markers // *Agronomy*. – 2021. – Vol. 11. – P. 604.

18 Mondini L., Noorani A., Pagnotta M.A. Assessing plant genetic diversity by molecular tools // *Diversity*. – 2009. – Vol. 1(1). – P.19–35.

19 Tantasawat P., Trongchuen J., Prajongjai T., Jenweerawat S., Chaowiset W. SSR Analysis of Soybean (*Glycine max*(L.) Merr.) Genetic Relationship and Variety Identification in Thailand // *Australian Journal of CropScience*. – 2011. - Vol. 5(3). – P.283–90. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.279676194009468>.

20 Alemu A., Feyissa T., Letta T., Abeyo B. Genetic diversity and population structure analysis based on the high density SNP markers in Ethiopian durumwheat (*Triticum turgidum*ssp. durum) // *BMC Genetics*. – 2020. – Vol. 21(1). – P. 1–12.

21 Vigna I. A., Milan D., San Cristobal M., Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics // *Genetics Selection Evolution*. – 2022. – Vol. 34(3). – P.275–305. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-3-275>

22 Guan R., Chang R., Li Y., Wang L., Liu Z., Qiu L. Genetic diversity comparison between Chinese and Japanese soybeans (*Glycine max*(L.) Merr.) revealed by nuclear SSRs // *Genetic Resources Crop Evolution*. – 2010. – Vol.57(2). – P.229–42.

23 Zhang C., Peng B., Zhang W., Wang S., Sun H., Dong Y., et.al. Application of SSR markers for purity testing of commercial hybrid soybean (*Glycine max* L.) // *Journal of Agricultural Science Technology*. – 2014. – Vol. 16 (6). – P.1389–96.

24 Wang L., Guan R., Zhangxiong L., Chang R., Qiu L. Genetic diversity of Chinese cultivated soybean revealed by SSR markers // *CropScience*. – 2006. – Vol.46(3). – P. 1032–8.

25 Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. 1987.

26 Cregan P.B., Jarvik T., Bush A.L., Shoemaker R.C., Lark K.G., Kahler A.L., Kaya N., Vantoai T.T., Lohnes D.G., Chung J., Specht J.E. An integrated genetic linkage map of the soybean genome // *Crop Sci*. – 1999. – Vol. 39(5). – P.1464-1490.

27 Gerardo Domingo Lucio Cervigni, Ivan Schuster, Everaldo Gonçalves de Barros Maurício Alves Moreira. Two microsatellite markers flanking a dominant gene for resistance to soybean cyst nematode race // *Euphytica*. – 2004. – Vol. 135. – P. 99–105.

28 Khatab I.A., Morsy A.R., Fares W.M. Kumamaru T. Genetic Diversity of Soybean Genotypes revealed by Agromorphological // *J. Fac. Agr., Kyushu Univ*. – 2016. – Vol. 61 (1). – P. 79–87.

29 Rani R., Raza G., Tung M.H., Rizwan M., Ashfaq H., Shimelis H., et al. (2023) Genetic diversity and population structure analysis in cultivated soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) using SSR and EST-SSR markers // *PLoS ONE*. –

2023. – Vol. 18(5): e0286099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286099>

30 Keitumetse K., Moosa M. S., Alina M. Genetic diversity analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes making use of SSR markers // *AJCS*. – 2019. – Vol. 13(07). – P.1113-1119 (2019) doi: 10.21475/ajcs.19.13.07.p1638

31 Ghimire N.H., Dhakal K. H., Pandey M.P., Joshi B.K., Khanal B. Assessment of Agronomic Traits and Molecular Diversity Using SSR Markers in Soybean, (*Glycine Max* (L.) Merr. Accessions in Nepal // *Agronomy Journal of Nepal*. – 2024. – Vol.8(1). – P. 119-134 ISSN: 2091-0649 <https://doi.org/10.3126/ajn.v8i1.70793>

32 Kimura M., Crow J. The number of alleles that can be maintained in a finite population // *Genetics*. – 1964. – Vol. 49(4). – P. 725-738. doi:10.1093/genetics/49.4.725.

33 Lewontin R. The apportionment of human diversity // *Evol. Biol*. – 1972. http://dx.doi.org/10.1007/9063-3_14

34 Peakall R., Smouse P. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update // *Bioinformatics bioinformatics*. – 2012. doi:10.1093/ <https://biology.assessments.anu.edu.au/GenAlEx/Download:/biol.ogy-asset>.

35 Botstein D., White R.L., Skalnick M.H., Davies R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism // *Am J Hum Genet*. – 1980. – Vol. 32. – P. 314–331.

36 Zatybekov A., Yermagambetova M., Genievskaia Y., Didorenko S., Abugalieva S. Genetic Diversity Analysis of Soybean Collection Using Simple Sequence Repeat Markers // *Plants*. – 2023. – Vol. 12. – P. 34-45. <https://doi.org/10.3390/plants12193445>.

REFERENCES

1 Chander S., Garcia-Oliveira A.L., Gedil M., Shah T., Otusanya G.O., Asiedu R., Chigeza G. Genetic diversity and population structure of soybean lines adapted to sub-Saharan Africa using single nucleotide polymorphism (SNP) markers // *Agronomy*. – 2021. – Vol. 11(604)

2 Khojely D.M., Ibrahim S.E., Sapey E., Han T. History, current status, and prospects of soybean production and research in sub-Saharan Africa // *Crop. J*. – 2018. – Vol. 6. – P. 226–235.

3 Lukanda M.M., Dramadri I.O., Adjei E.A., Arusei P., Gitonga H.W., Wasswa P., Edema R., Ssemakula M.O., Tukamuhabwa P., Tusiime G. Genetic Diversity and Population Structure of Ugandan Soybean (*Glycine max* L.) Germplasm Based on DArTseq // *Plant Mol. Biol. Rep*. – 2023. – Vol.41. -P. 417–426.

4 Sivabharathi R., Muthuswamy A., Anandhi K., Karthiba L. Genetic Diversity Studies of Soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] Germplasm Accessions using Cluster and Principal Component Analysis // *Legume Res.Int. J*. – 2023. – Vol. 1 (6)

5 Abebe A.T., Kolawole A.O., Unachukwu N., Chigeza G., Tefera H., Gedil M. Assessment of diversity in tropical soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) varieties and elite breeding lines using single nucleotide polymorphism markers // *Plant Genet. Resour*. – 2021. – Vol.19. – P. 20–28.

- 6 Hymowitz T., Shurtleff W.R. Debunking Soybean Myths and Legends in the Historical and Popular Literature // *Crop Sci.* – 2005. – Vol. 45. – P. 473–476.
- 7 Walling J.G., Shoemaker R., Young N., Mudge J., Jackson S. Chromosome-level homeology in paleopolyploid soybean (*Glycine max*) revealed through integration of genetic and chromosome maps // *Genetics.* – 2006. – Vol. 172. – P. 1893–1900.
- 8 Mazkirat Sh, Babissekova D.I., Didorenko S.V., Kulakhmetova Zh.E., Bulatova K.M. Use of codominant protein and DNA markers in identification of F1 hybrid progenies in soybean // *Experimental Biology.* – 2023. – Vol. (95). – P. 84–94.
- 9 <https://ipad.fas.usda.gov/countrysummary/default.aspx?id=KZ>
- 10 Rahman S.U., McCoy E., Raza G., Ali Z., Mansoor S., Amin I. Improvement of soybean; a way forward transition from genetic engineering to new plant breeding technologies // *Molecular Biotechnology.* – 2023. – Vol.65. – P. 162–180, <https://doi.org/10.1007/s12033-022-00456-6>.
- 11 Tasma I.M., Yani N.P.M.G., Purwaningdyah R. Satyawan D., Nugroho K., Lestari P., Trijatmiko K.R. and Mastur M. Genetic diversity analysis and F2 population development for breeding of long juvenile trait in soybean // *Jurnal AgroBiogen.* – 2018. – Vol. 14(1). – P. 11–22.
- 12 Mawasid F.P. Syukur M., Trikoesoemaningtyas T., Wibisono, K. Evaluation to select tomato genotypes with big fruit and verification of genetic advance // *Current Applied Science and Technology.* – 2023. – Vol. 23(3). <https://doi.org/10.55003/cast.2022.03.23.004>.
- 13 Dama H., Aisyah S.I., Sudarsono S., Dewi A.K., Wibisono K. Identification, selection, and response of radiation induced towuti mutant rice (*Oryza sativa* L.) in drought stress conditions // *Atom Indonesia.* – 2022. – Vol. 48(2). – P. 107–114, <https://doi.org/10.17146/aij.2022.1198>.
- 14 Nugroho K., Terryana R.T., Reflinur N., Asadi N., Lestari P. The genetic diversity analysis of introduced soybean cultivars using microsatellite markers // *Informatika Pertanian.* – 2017. – Vol. 26(2). – P. 121–132, <https://doi.org/10.21082/ip.v26n2.2017.p121-132>.
- 15 Kujane K., Sedibe M.M., Mofokeng M.A. Assessment of genetic diversity among soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes making use of agromorphological based on nutritional quality traits // *Appl. Ecol. Environ. Res.* – 2021. – Vol. 19. – P.3703–3716.
- 16 Teklu D.H., Shimelis H., Tesfaye A., Shayanowako A.I.T. Analyses of genetic diversity and population structure of sesame (*Sesamum indicum* L.) germplasm collections through seed oil and fatty acid compositions and SSR markers // *J. Food Compos. Anal.* – 2022. – Vol. 110. – P. 104–545.
- 17 Chander S., Garcia-Oliveira A.L., Gedil M., Shah T., Otusanya G.O., Asiedu R., Chigeza G. Genetic diversity and population structure of soybean lines adapted to sub-Saharan Africa using single nucleotide polymorphism (SNP) markers // *Agronomy.* – 2021. – Vol. 11. – P. 604.
- 18 Mondini L., Noorani A., Pagnotta M.A. Assessing plant genetic diversity by molecular tools // *Diversity.* – 2009. – Vol. 1(1). – P.19–35.
- 19 Tantasawat P., Trongchuen J., Prajongjai T., Jenweerawat S., Chaowiset W. SSR Analysis of Soybean (*Glycine max*(L.) Merr.) Genetic Relationship and Variety Identification in Thailand // *Australian Journal of CropScience.* – 2011. –Vol. 5(3). – P.283–90. <https://search.informit.org/doi/10.3316/informit.279676194009468>.
- 20 Alemu A., Feyissa T., Letta T., Abeyo B. Genetic diversity and population structure analysis based on the high density SNP markers in Ethiopian durumwheat(*Triticum turgidum*ssp. durum) // *BMC Genetics.* – 2020. – Vol. 21(1). – P. 1–12.
- 21 Vigna I. A., Milan D., San Cristobal M., Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics // *Genetics Selection Evolution.* –2022. – Vol. 34(3). – P.275–305. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-3-275>
- 22 Guan R., Chang R., Li Y., Wang L., Liu Z., Qiu L. Genetic diversity comparison between Chinese and Japanese soybeans(*Glycine max*(L.) Merr.) revealed by nuclear SSRs // *Genetic ResourcesCrop Evolution.* – 2010. – Vol.57(2). – P.229–42.
- 23 Zhang C., Peng B., Zhang W., Wang S., Sun H., Dong Y., et.al. Application of SSR markers for purity testing of commercial hybrid soybean (*Glycine max* L.) // *Journal of Agricultural Science Technology.* – 2014. – Vol. 16 (6). – P.1389–96.
- 24 Wang L., Guan R., Zhangxiong L., Chang R., Qiu L. Genetic diversity of Chinese cultivated soybean revealed by SSR markers // *CropScience.* – 2006. – Vol.46(3). – P. 1032–8.
- 25 Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. 1987.
- 26 Cregan P.B., Jarvik T., Bush A.L., Shoemaker R.C., Lark K.G., Kahler A.L., Kaya N., Vantoai T.T., Lohnes D.G., Chung J., Specht J.E. An integrated genetic linkage map of the soybean genome // *Crop Sci.* – 1999. – Vol. 39(5). – P.1464–1490.
- 27 Gerardo Domingo Lucio Cervigni, Ivan Schuster, Everaldo Gonçalves de Barros Maurílio Alves Moreira. Two microsatellite markers flanking a dominant gene for resistance to soybean cyst nematode race // *Euphytica.* – 2004. – Vol. 135. – P. 99–105.
- 28 Khatab I.A., Morsy A.R., Fares W.M. Kumamaru T. Genetic Diversity of Soybean Genotypes revealed by Agromorphological // *J. Fac. Agr., Kyushu Univ.* – 2016. – Vol. 61 (1). – P. 79–87.
- 29 Rani R., Raza G., Tung M.H., Rizwan M., Ashfaq H., Shimelis H., et al. (2023) Genetic diversity and population structure analysis in cultivated soybean (*Glycine max* [L.] Merr.) using SSR and EST-SSR markers // *PLoS ONE.* – 2023. – Vol. 18(5): e0286099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0286099>
- 30 Keitumetse K., Moosa M. S., Alina M. Genetic diversity analysis of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) genotypes making use of SSR markers // *AJCS.* – 2019. – Vol. 13(07). – P.1113–1119 (2019) doi: 10.21475/ajcs.19.13.07.p1638
- 31 Ghimire N.H., Dhakal K. H., Pandey M.P., Joshi B.K., Khanal B. Assessment of Agronomic Traits and Molecular

Diversity Using SSR Markers in Soyabean, (Glycine Max (L.) Merr. Accessions in Nepal // *Agronomy Journal of Nepal*. – 2024. – Vol.8(1). – P. 119-134 ISSN: 2091-0649. <https://doi.org/10.3126/ajnv8i1.70793>

32 Kimura M., Crow J. The number of alleles that can be maintained in a finite population // *Genetics*. – 1964. – Vol. 49(4). – P. 725-738. doi:10.1093/genetics/49.4.725.

33 Lewontin R. The apportionment of human diversity // *Evol. Biol.* – 1972. http://dx.doi.org/10.1007/9063-3_14

34 Peakall R., Smouse P. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update // *Bioinformatics bioinformatics*. – 2012. doi:10.1093/ <https://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Download://biology-asset>.

35 Botstein D., White R.L., Skalnick M.H., Davies R.W. (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism // *Am J Hum Genet*. – 1980. – Vol. 32. – P. 314–331.

36 Zatybekov A., Yermagambetova M., Genievskaia Y., Didorenko S., Abugalieva S. Genetic Diversity Analysis of Soybean Collection Using Simple Sequence Repeat Markers // *Plants*. – 2023. – Vol. 12. – P. 34-45. <https://doi.org/10.3390/plants12193445>.

УДК: 606:577.21:633.34

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ОБРАЗЦОВ СОИ С ПРИМЕНЕНИЕМ SSR-МАРКЕРОВ

Амангелдиева А.А.^{1,2*}, Ержебаева Р.С.¹, Дидоренко С.В.¹¹ Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, Казахстан, 040909 пос. Алмалыбак, ул. Ерленесова, 1² Казахский Национальный Университет имени Аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы, 050040 пр. Аль-Фараби, 71

*Автор корреспонденции: aigul_seidinabiyeva@inbox.ru

АБСТРАКТ

Соя (*Glycine max* L.) – важная бобовая культура, используемая для удовлетворения потребностей многих народов мира в белке и масле. Оценка генетического разнообразия образцов сои имеет большое значение для расширения генетической базы и повышения эффективности селекционных программ. Цель данного исследования заключалась в оценке генетического разнообразия 188 образцов сои с использованием 15 полиморфных SSR-маркеров для определения степени их генетической дифференциации и потенциала использования в селекции. В результате исследования было выявлено всего 55 аллелей, в среднем 2,68 аллеля на локус. Полиморфная информативность (PIC) варьировала от 0,35 (Satt385) до 0,74 (Satt409), в среднем составляя 0,61. Ожидаемая гетерозиготность (He) изменялась от 0,35 (Satt385) до 0,74 (Satt409), со средним значением 0,60. Кроме того, на основе бинарных данных аллелей был построен филогенетический *Neighbor-Joining* (NJ) дендрограмма, которая выявила 3 основных кластера, каждый из которых делился на два подкластера. Также, анализ молекулярно-генетических данных с использованием метода *UPGMA* позволил выявить 2 и 1 основных кластера на разных уровнях генетической дистанции (0,21; 0,22). Полученные кластеры демонстрируют различные взаимосвязи между местными и зарубежными генотипами, что отражает как сохранение местного генофонда, так и его расширение за счет включения иностранных сортов. Полученные в этом исследовании данные о разнообразии генотипов сои помогут селекционерам в будущем при выборе родительских форм в селекционном процессе.

Ключевые слова: соя, SSR-маркер, генетическое разнообразие, аллель, генотип, кластерный анализ.

UDC: 606:577.21:633.34

EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY OF SOYBEAN ACCESSIONS USING SSR MARKERS

Amangeldiyeva A.A.^{1,2*}, Yerzhebayeva R.S.¹, Didorenko S.V.¹¹ Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing, Almalybak 040909, Kazakhstan² Al-Farabi Kazakh National University, 71 Al-Farabi Avenue, Almaty 050040, Kazakhstan

*Corresponding author: aigul_seidinabiyeva@inbox.ru

ABSTRACT

Soybean (*Glycine max* L.) is an important legume crop used to meet the protein and oil demands of many populations worldwide. Assessing the genetic diversity of soybean accessions is crucial for expanding the genetic base and improving the efficiency of breeding programs. The aim of this study was to evaluate the genetic diversity of 188 soybean accessions using 15 polymorphic SSR markers to determine the degree of their genetic differentiation and their potential for use in breeding. As a result of the study, a total of 55 alleles were identified, with an average of 2.68 alleles per locus. The polymorphic information content (PIC) ranged from 0.35 (Satt385) to 0.74 (Satt409), with an average of 0.61. The expected heterozygosity (He) ranged from 0.35 (Satt385) to 0.74 (Satt409), with an average value of 0.60. Furthermore, a phylogenetic *Neighbor-Joining* (NJ) dendrogram based on the binary allele data revealed three main clusters, each of which was divided into two subclusters. In addition, the analysis of molecular genetic data using the *UPGMA* method allowed the identification of two and one main clusters at different levels of genetic distance (0.21; 0.22). The obtained clusters reflect various relationships between local and foreign genotypes, indicating both the preservation of the local gene pool and its expansion through the inclusion of foreign cultivars. The information on genetic diversity among soybean genotypes obtained in this study will assist breeders in selecting parental lines for future breeding programs.

Key words: soybean, SSR marker, genetic diversity, allele, genotype, cluster analysis.