



## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ В СЕЛЕКЦИИ СОИ ДЛЯ ОТБОРА ФОТОПЕРИОДИЧЕСКИ НЕЙТРАЛЬНЫХ ЛИНИЙ

✉ Ержебаева Р.С., Бабисекова Д.И., Дидоренко С.В.

Казакский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства

Алматинская область, пос. Алмалыбак, Республика Казахстан

✉ e-mail: raushan\_2008@mail.ru

Представлены результаты применения ДНК-маркеров в селекционном процессе сои для отбора фотопериодически нейтральных линий. Исследования проведены в предгорной зоне юго-востока Республики Казахстан на базе научно-полевого стационара в условиях 2020 г. Материалы исследования – 22 образца сои от ультраскороспелых (MG000) до средне-позд-незрелых (MGIII) групп спелости, использованных в качестве родительских форм для скрещиваний, а также 67 гибридных популяций из них (поколение  $F_2-F_4$ ). ДНК-идентификация аллельной вариации генов *E1*, *E3*, *E7* проведена методом ПЦР с использованием SSR маркеров. По результатам ДНК-идентификации определены 10 образцов наиболее ценных родительских форм сои (носителей двух рецессивных аллелей в гомозиготном состоянии *ele7*) и 1 образец (сорт Малета), несущий три рецессивные аллели *ele3e7*. На основании маркер-ассоциированного отбора из 355 отдельных растений 67 гибридных популяций выявлены 9 растений, несущих рецессивные аллели *ele3e7*, из таких гибридных популяций, как Зара × Малета (номера гибридных популяций: 1, 2, 7, 15) и Бірлік × Rana (П-1), и 107 растений с рецессивными аллелями *ele7* из популяций: Зара × Малета (номера гибридных популяций: 1, 9, 7, 13), Бірлік × Hilario (П-10), Бірлік × Toury (П-6), Бірлік × Память ЮГК (П-5, M15/2, M15/3, M15/4 и M20), Бірлік × Припять (П-2), Ласточка × 234 (ЛТ44/11, ЛТ44/12). Данные образцы могут быть направлены для испытания в северные регионы Республики Казахстан как слабочувствительные к фотопериоду линии.

**Ключевые слова:** соя, ген чувствительности к фотопериоду, ДНК-маркер, маркер-ассоциированный отбор, селекция, линия

## THE USE OF DNA MARKERS IN SOYBEAN BREEDING TO SELECT PHOTOPERIOD-NEUTRAL LINES

✉ Yerzhebayeva R.S., Babissekova D.I., Didorenko S.V.

Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing

Almalybak, Almaty Region, Republic of Kazakhstan

✉ e-mail: raushan\_2008@mail.ru

The results of using DNA markers in the soybean breeding process to select photoperiod-neutral lines are presented. The studies were carried out in the foothill zone of the south-east of the Republic of Kazakhstan on the basis of the scientific field station of the Kazakh Research Institute of Agriculture and Plant Growing in the conditions of 2020. The material for the study was 22 samples of soybean from ultra-early ripening (MG000) to middle late ripening (MGIII) groups used as parental forms for crosses and their 67 hybrid populations (generation  $F_2-F_4$ ). DNA identification of the allelic variation of the *E1*, *E3*, *E7* genes was carried out by PCR method using SSR markers. According to the results of DNA identification, ten samples of the most valuable parental forms of soybeans (carriers of two recessive alleles in the homozygous state *ele7*) and 1 sample (the Maleta variety)

carrying three recessive alleles *e1e3e7* were identified. Based on the marker-associated selection from 355 individual plants of 67 hybrid populations, 9 plants carrying valuable recessive alleles *e1e3e7* were isolated from such combinations as Zara x Maleta (hybrid population numbers: 1, 2, 7, 15) and Birlik x Rana (P-1) and 107 plants carrying valuable recessive *e1e7* alleles from such populations as: Zara x Maleta (hybrid population numbers: 1, 9, 7, 13), Birlik x Hilario (P-10), Birlik x Toury (P-6), Birlik x Memory YuGK (P-5, M15/2, M15/3, M15/4 and M20), Birlik x Pripyat (P-2), Lastochka x 234 (LT44/11, LT44/12). These samples can be sent for testing to the northern regions of the Republic of Kazakhstan as the lines that are weakly sensitive to the photoperiod.

**Keywords:** soybean, photoperiod sensitivity gene, DNA marker, marker-associated selection, selection, line

**Для цитирования:** Ержебаева Р.С., Бабисекова Д.И., Дидоренко С.В. Использование ДНК-маркеров в селекции сои для отбора фотопериодически нейтральных линий // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2022. Т. 52. № 5. С. 136–146. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-5-17>

**For citation:** Yezhebayeva R.S., Babisekova D.I., Didorenko S.V. The use of DNA markers in soybean breeding to select photoperiod-neutral lines. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaystvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2022, vol. 52, no. 5, pp. 136–146. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-5-17>

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

#### Благодарность

Данная работа выполнена в рамках 267 бюджетной программы, подпрограммы 101 программно-целевого финансирования научных исследований и мероприятий Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан № ИРН BR10764991 по теме «Создание высокопродуктивных сортов и гибридов масличных и крупяных культур на основе достижений биотехнологии, генетики, физиологии, биохимии растений для устойчивого их производства в различных почвенно-климатических зонах Казахстана»

#### Acknowledgments

This work was carried out within the framework of the 267 budget program, subprogram 101 of program-targeted financing of scientific research and activities of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan No. IRN BR10764991 on the topic “Creation of highly productive varieties and hybrids of oilseeds and cereals based on the achievements of biotechnology, genetics, physiology, biochemistry of plants for their sustainable production in various soil and climatic zones of Kazakhstan”

## ВВЕДЕНИЕ

Соя (*Glycine max* (L.) Merr.) – ведущая в мире масличная культура. Соевые бобы являются богатым источником растительного масла и белка. Это культура многоцелевого использования: продовольственного, кормового, медицинского и технического. Мировое производство сои в 2020 г. составило 353,4 млн т. По производству сои в мире лидируют США, которые производят 86,6 млн т, за которыми следует Бразилия (62,8 млн т), Аргентина (36,8 млн т)<sup>1</sup>.

Соя – фотопериодически высокочувствительная, короткодневная культура [1]. Увеличение продолжительности светового дня до 16–17 ч оказывают значительное влияние на вегетационный период, высоту рас-

тений и их продуктивность, существенно ограничивая широтный ареал возделывания отдельных сортов сои<sup>2</sup> [2–6]. Ученые-селекционеры отмечают, что в условиях длинного дня фоточувствительные сорта позднее зацветают, затягивая вегетационный период и не вызревают в срок (до наступления осенних заморозков). Если требования сорта к длине дня очень резко отличаются от условий, в которые он помещен, сорт вообще не переходит к цветению и плодоношению [7–9]. По этой причине сорта сои, в отличие от сортов зерновых культур, приурочены к узким диапазонам географических широт. В связи с ежегодным расширением ареала выращивания сои повышается актуальность создания сортов, способных давать высокие

<sup>1</sup>Данные ФАО. <http://www.fao.org/faostat>

<sup>2</sup>Савельев А.А. Методы идентификации генотипов при селекции сортов сои с пониженной фотопериодической чувствительностью: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.01.05. ГНУ Всероссийский НИИ масличных культур им. В.С. Пустовойта. Краснодар. 2009. 24 с. (дата обращения: 01.05.2022).

урожаи в условиях с ограниченными тепловыми ресурсами, вызревать в более северных широтах, где продолжительность светового дня в период с середины мая и до конца июля превышает 16 ч.

Молекулярно-генетическую основу адаптации сои к различным зонам возделывания обеспечивают гены, обозначенные как *E*. Известны двенадцать основных генов сои, контролирующих время цветения, спелости и чувствительности к фотопериоду: *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E5*, *E6*, *E7*, *E8*, *E9*, *E10*, *E11* и *J* [10]. Из перечисленных выше генов *E1*, *E2*, *E3*, *E4* и *E7* описаны как количественные фотопериодические гены [11, 12], рецессивные аллели которых приводят к фотопериодической нейтральности, а доминантные аллели замедляют переход к репродуктивной фазе и наступлению спелости. Широкая адаптивность культуры обусловлена различными вариациями аллельных комбинаций локусов *E1*, *E2*, *E3*, *E4*, *E7* [13, 14]. Использование знаний генетики цветения, спелости и чувствительности к фотопериоду в селекционном процессе позволило создать сорта сои, которые в настоящее время возделываются в разнообразных климатических зонах [3, 15].

Основой для селекции является наличие доноров и источников скороспелости и фотопериодической нейтральности в генофонде сои. На основании фенотипической оценки коллекции (2300 образцов) в разных регионах Российской Федерации ученые из Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) выделили 340 ультраскороспелых и скороспелых сортов, которые достигли полного налива семян в самой северной точке опытов – Ленинградской области (59°44' с. ш., 30°23' в. д.). Это наиболее северная точка мирового соеведения [8, 16]. Использование таких сортов в селекционном процессе позволяет селекционерам создавать отечественные сорта северного экотипа.

В Казахском НИИ земледелия и растениеводства (КазНИИЗиР), расположенном на юго-востоке Республики Казахстан на 43° с. ш., совместно с сельскохозяйственными опытными станциями начата селекция

ультраскороспелых MG000 (maturity group) и скороспелых MG00 групп спелости сои для северных (53° с. ш.) и восточных (49° с. ш.) регионов в 2008 г. [17]. В настоящее время на территории Павлодарской, Костанайской областей допущен к использованию только один сорт Ивушка (MG000), на территории Восточно-Казахстанской области – четыре сорта сои (Жалпаксай, Бірлік КВ, Восточная красавица, Алуа) селекции КазНИИЗиР. Селекция на фотопериодическую нейтральность усложнена тем, что фенотипически выявление признака возможно только в условиях длинного дня, в результате испытания в северных экологических точках. Для отбора признака фотопериодической нейтральности необходимо применение ДНК-маркеров, позволяющих отслеживать рецессивные аллели гена в расщепляющихся поколениях. В связи с этим в КазНИИЗиР начаты работы по внедрению маркер-ассоциированного отбора в селекционный процесс сои по признаку чувствительности к фотопериоду для продвижения сои в северные регионы Республики Казахстан.

Цель исследований – идентификация аллельной вариации генов *E1*, *E3*, *E7* у сортов и линий сои, используемых в качестве родительских форм, и у отдельных растений в гибридных популяциях для отбора нечувствительных к фотопериоду линий.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом исследований служили 22 родительские формы сои MG000 – MGIII (III) групп спелости и полученные с их использованием 67 гибридных популяций ( $F_2$ – $F_4$ ).

Для достоверности исследований в опыт включены ДНК-образцы сои – носители рецессивных аллелей генов *E1*, *E7*, *E3* – в качестве положительных контролей: Maple Amber (*e1*), Harosoy OT94-47 (*e3*), Harosoy (*e7*), а также носители доминантных аллелей в качестве отрицательных контролей: Harosoy OT89-5 (*E7*), Ласточка (*E1*), Harosoy (*E3*). Линии Harosoy были предоставлены белорусским ученым О.Г. Давыденко (ООО «Соя-Север»).

**Методика исследований.** Растения изучаемых гибридных популяций сои  $F_2$ – $F_4$  выращены в 2020 г. на полевом селекционном участке КазНИИЗиР, расположенном в предгорной зоне юго-востока Республики Казахстан (Алматинская область) на высоте 740 м над уровнем моря (географическое расположение 43°15' с. ш., 76°54' в. д.). Учетная делянка – 1 пог. м, посев по 25 семян с глубиной заделки 4 см. Повторность однократная. При составлении схем скрещиваний учитывали цвет венчика цветка родительских форм как маркерный признак: у отцовской формы – фиолетового цвета, а у материнской формы – белого цвета. Для выращивания и отбора элитных гибридных растений в селекционном процессе сои применялся метод педигри. Гибридные семена  $F_1$  высевали отдельно по комбинациям по схеме: ♀ :  $F_1$  : ♂. У гибридов  $F_1$  проводили браковку по окраске цветка венчика, удаляя растения с белыми цветками. Уборку растений  $F_1$  проводили строго индивидуально. Собранные семена от каждого растения, начиная с поколения  $F_2$ , высевали отдельно по семьям (потомства от каждого растения). В течение вегетации были проведены фенологические наблюдения за ростом и развитием растений сои. В конце вегетации был произведен отбор наиболее продуктивных

растений. Осуществлялась полевая браковка по признакам растрескивания, полегания, склонности к заболеваниям. Количество отобранных растений в различных комбинациях скрещиваний зависело от процента гибридности  $F_1$  и браковки малоценных форм.

Для ДНК-идентификации были подобраны лучшие гибридные популяции поколения  $F_3$ – $F_4$ , за исключением Зара × Major и Зара × Hilario ( $F_2$ ). С каждой гибридной популяции сои пронумеровано и маркировано по 5 здоровых растений. После достижения фазы 3-й пары настоящих листьев с каждого маркированного растения (из листьев) экстрагировано ДНК с использованием СТАВ-метода [18]. ПЦР-анализ проводили в амплификаторе «Eppendorf Mastercycler» (Германия). В работе использовали молекулярные маркеры: к гену  $E7$  – *Satt 100* и *Satt 319* [19]; к гену  $E1$  – *Satt 557* [13], *Satt 365* [19]; к гену  $E3$  – *Satt 229* [19]. Нуклеотидная последовательность и условия ПЦР представлены в табл. 1.

Состав реакционной смеси для ПЦР анализа был следующим: 100 нг (нанogramм) геномной ДНК, 1 × PCR буфер, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 200 мМ каждого dNTP, 0,5 мМ каждого праймера, 0,5 ед. Taq – полимеразы (ООО «Биосан», Новосибирск, Россия), BSA – 1 мкг. Детектирование про-

**Табл. 1.** Перечень маркеров и условия ПЦР, используемых для идентификации генов чувствительности к фотопериоду

**Table 1.** List of markers and PCR conditions used to identify photoperiod sensitivity genes

Ген	Молекулярный маркер		
	Название	Нуклеотидная последовательность	Условия ПЦР
<i>E1</i>	<i>Satt 557</i>	F: GCGGGATCCACCATGTAATATGTG R: GCGCACTAACCCCTTTATTGAA	95 °C – 5 мин, 35 циклов (92 °C – 30 с, 53 °C – 30 с, 72 °C – 45 с), 72 °C – 7 мин
	<i>Satt 365</i>	F: TGCTCCCCTCTGCCTTTTTTCTATTT R: AAGGATGAGTTTGATAAACATGAATGAAGAA	
<i>E7</i>	<i>Satt 100</i>	F: ACCTCATTTTTGGCATAAA R: TTGGAAAACAAGTAATAATAACA	95 °C – 5 мин, 35 циклов (92 °C – 45 с, 53 °C – 1 мин, 72 °C – 80 с), 72 °C – 7 мин
	<i>Satt 319</i>	F: CAACTCAGTAGGGGTCAATAACAA R: TGAAATAGGGAAAATAAGGGAACA	
<i>E3</i>	<i>Satt 229</i>	F: TGGCAGCACACCTGCTAAGGGAATAAA R: GCGAGGTGGTCTAAAATTATTACSTAT	95 °C – 5 мин, 35 циклов (92 °C – 30 с, 53 °C – 45 с, 72 °C – 45 с), 72 °C – 7 мин

водили методом электрофореза продуктов амплификации в 8%-м полиакриламидном геле (Sigma Life Science, Китай). В качестве маркеров молекулярных весов использовали ДНК-маркер *Step 100* (ООО «Биолабмикс», Новосибирск, Россия). На основании сопоставления данных продуктивности, скороспелости и ПЦР-анализа выделены элитные растения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Идентификация аллельной вариации генов E1, E3, E7 у сортов и линий сои, используемых в качестве родительских форм при гибридизации.* Для получения линий сои, ориентированных на северные области Казахстана, из рабочей коллекции подобраны сорта и линии по таким важным признакам, как скороспелость и высокая продуктивность. С целью идентификации родительских форм сои по аллельной вариации генов чувствительности к фотопериоду *E1, E3, E7* проведен ПЦР-анализ. С использованием маркеров *Satt 557* и *Satt 365* к гену *E1* зафиксирована амплификация двух фрагментов, которые были идентифицированы как А и В аллели согласно Molnar S. et al., 2003 [19]. В результате ДНК-идентификации 22 сортов и линий, используемых в качестве родительских форм, выделены 11 (234, 470, 583583, Бірлік КВ, Устя, Хорол, Ясельда, Припять, Тоугу, Малета), несущие рецессивную аллель *e1* (см. табл. 2).

Идентификация аллельной вариации гена *E3* родительских форм позволила выделить 2 образца с ценной рецессивной аллелью *e3* (сорта Рана и Малета) (см. табл. 2, рис. 1).

В эксперименте по определению аллельной вариации гена *E7* амплифицированы три фрагмента, которые были идентифицированы как А, В и С согласно Rosenzweig et al. [20]. Аллелям *E7* и *e7* соответствуют обозначения А и В. Также был обнаружен неизвестный аллель с фрагментом 154 п.н., соответствующий С, в локусе *Satt 100*. На основании идентификации выделены 11 образцов (234, 470, 583583, Бірлік КВ, Устя, Хорол, Ясельда, Припять, Тоугу, Малета, Jhony), несущих рецессивную аллель *e7* нечувствительности

к фотопериоду (см. табл. 2). Таким образом, из подобранных 22 родительских форм сои выделено 10, несущих две рецессивные аллели *e1e7*, и сорт Малета, несущий все три рецессивные аллели *e1e3e7*.

*Маркер-ассоциированный отбор по генам E1, E3, E7 в гибридных популяциях сои, полученных в результате целенаправленных скрещиваний. Идентификация аллельной вариации гена E1.* На основании ПЦР-анализа 335 индивидуальных растений 67 гибридных популяций идентифицированы 126 растений (37,6%) – носителей ценной рецессивной аллели *e1*. Они выявлены из следующих гибридных популяций поколений  $F_3$ – $F_4$ : Бірлік КВ (*e1*) × Память ЮКГ (*E1*), Бірлік КВ (*e1*) × Тоугу (*e1*), Бірлік КВ (*e1*) × Соер 345 (*E1*) (см. рис. 2), Ласточка (*E1*) × 234 (*e1*), Зара (*E1*) × Хорол (*e1*), Бірлік КВ (*e1*) × Припять (*e1*), Бірлік КВ (*e1*) × Gignon 5 (*E1*), Бірлік КВ (*e1*) × Hilario (*E1*), Зара (*E1*) × Малета (*e1*), Зара (*E1*) × Соер 5 (*E1*), Зара (*E1*) × Major (*e1*) (см. табл. 3). Наибольший процент отобранных растений с рецессивной аллелью *e1* отмечен по комбинациям: Бірлік КВ (*e1*) × Hilario (*E1*) (80%) и Бірлік КВ (*e1*) × Память ЮКГ (*E1*) (77%). По таким гибридным комбинациям, как Зара × Хорол, Бірлік КВ × Тоугу, Бірлік КВ × Припять, где обе родительские формы являются носителями рецессивной аллели *e1*, зафиксирована 100%-я встречаемость искомой аллели *e1* из числа изученных растений (см. табл. 3).

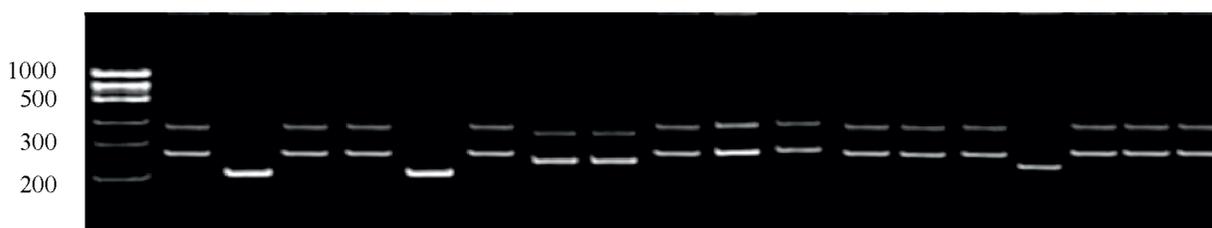
*Идентификация аллельной вариации гена E3.* На основании ПЦР-анализа 335 индивидуальных растений 67 гибридных популяций (по 5 индивидуальных растений) выделено и отобрано 23 растения (6,9%) с ценной аллелью *e3*, полученных от комбинаций скрещивания Зара × Малета (1, 2, 3 (см. рис. 3), 7, 10, 12, 15) и Бірлік × Рана (П-1). Из 23 отобранных растений гибридных популяций Зара × Малета выделены 22 образца (95,7%).

*Идентификация гена E7.* Проведенный ПЦР-анализ по идентификации аллельной вариации гена *E7* у 335 индивидуальных растений 67 гибридных популяций позволил выделить 135 отдельных растений (40,3%),

**Табл. 2.** Результаты идентификации генов чувствительности к фотопериоду (*E1*, *E7*, *E3*) у образцов сои, используемых в качестве родительских форм при гибридизации

**Table 2.** Results of identification of photoperiod sensitivity genes (*E1*, *E7*, *E3*) in soybean samples used as parental forms in hybridization

Образец	Происхождение	Группа спелости	Родительская форма	<i>Satt</i> 557	<i>Satt</i> 365	Ал- лель гена <i>E1</i>	<i>Satt</i> 229	Ал- лель гена <i>E3</i>	<i>Satt</i> 100	<i>Satt</i> 319	Ал- лель гена <i>E7</i>
<i>Линии-контроли</i>											
Narosoy OT89-5 <i>E7</i>	Япония	00	–	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>B</i>	<i>e3</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Narosoy OT 94-47	Япония	00	–	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>B</i>	<i>e3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Narosoy	Япония	0	–	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Maple Amber	Канада	000	–	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>B</i>	<i>e3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Ласточка	Казахстан	III	♀	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
<i>Родительские формы</i>											
470	Неизвестно	00	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>C</i>	–	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
583583	Неизвестно	00	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>C</i>	–	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Бірлік KB	Казахстан	00	♀	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Зара	Казахстан	I	♀	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Соер 3	Россия	00	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>C</i>	–	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Соер 5	Россия	0	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Соер 345	Россия	0	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>C</i>	–	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Бара	Россия	000	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>C</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Малета	Россия	000	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>B</i>	<i>e3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
234	Россия	000	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>C</i>	–	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Устя	Украина	00	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Хорол	Канада – Украина	0	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Ясельда	Беларусь	00	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Припять	Беларусь	00	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Toury	Чехия	0	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Rana	Чехия	00	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>B</i>	<i>e3</i>	<i>C</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Hilario	Италия	III	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Jhony	Неизвестно	00	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e7</i>
Major	Франция	0	♂	<i>B</i>	<i>B</i>	<i>e1</i>	<i>C</i>	–	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Gignon 5	Франция	I	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>
Память ЮГК	Казахстан	I	♂	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E1</i>	<i>A</i>	<i>E3</i>	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>E7</i>



**Рис. 1.** Результаты ПЦР по идентификации аллельной вариации гена *E3* у сортов и линий сои, используемых в качестве родительских форм с использованием маркера *Satt* 229

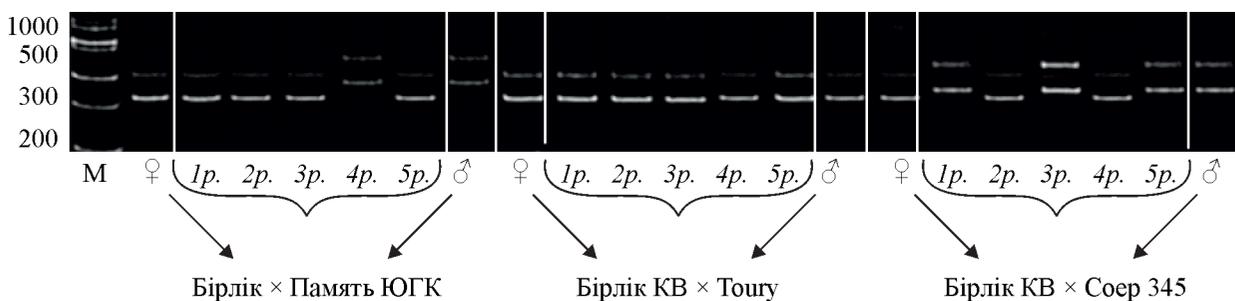
*M* – маркер *Step* 100, *E3* – Narosoy (*E3*), *e3* – Narosoy OT94-47 (*e3*), 1 – Зара, 2 – Бірлік KB, 3 – Rana, 4 – Припять, 5 – Toury, 6 – Соер 345, 7 – Hilario, 8 – Бара, 9 – Jhony, 10 – Соер 5, 11 – Major, 12 – Соер 3, 13 – Малета, 14 – Устя, 15 – Gignon 5, 16 – Память ЮГК

**Fig. 1.** PCR results for the identification of the allelic variation of the *E3* gene in soybean varieties and lines used as parental forms using the marker *Satt* 229

*M* - *Step* 100 marker, *E3* - Narosoy (*E3*), *e3* - Narosoy OT94-47 (*e3*), 1 - Zara, 2 - Birlik KV, 3 - Rana, 4 - Pripyat, 5 - Toury, 6 - Soer 345, 7 - Hilario, 8 - Bara, 9 - Jhony, 10 - Soer 5, 11 - Major, 12 - Soer 3, 13 - Maleta, 14 - Ustyа, 15 - Gignon 5, 16 - Memory YuGK

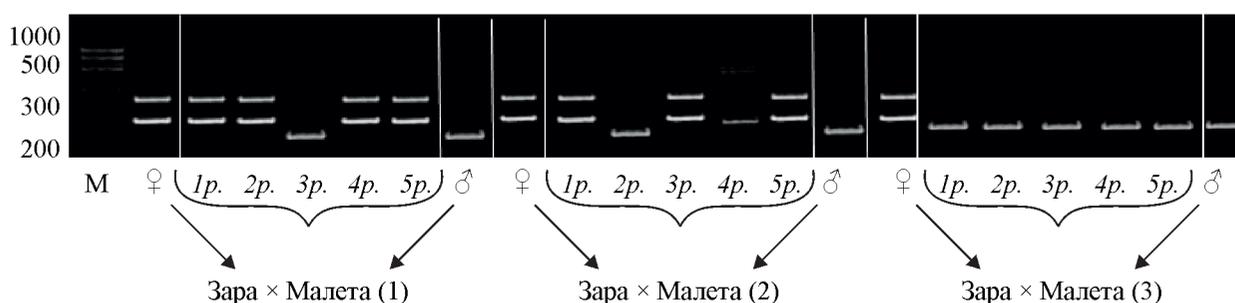
**Табл. 3. Результаты ДНК-идентификации гибридных популяций сои**  
**Table 3. Results of DNA identification of hybrid soybean populations**

Наименование комбинации скрещивания	Полколение	Число изученных гибридных популяций, шт.	Число анализированных растений, шт.	Наличие рецессивной аллели <i>e1</i>		Наличие рецессивной аллели <i>e3</i>		Количество отобранных растений, шт. (%)
				Наименование гибридных популяций, в которых были отобраны носители аллели <i>e1</i>	Количество отобранных растений, шт. (%)	Наименование гибридных популяций, в которых были отобраны носители аллели <i>e1</i>	Количество отобранных растений, шт. (%)	
Ласточка × 234	F <sub>3</sub>	3	15	ЛТ44/11, ЛТ44/12	10 (66,7%)	–	ЛТ44/11, ЛТ44/12	10 (66,7%)
Зара × Ясельда	F <sub>3</sub>	1	5	–	–	–	–	–
Зара × Хорол	F <sub>3</sub>	2	10	Н 10/1, Н 10/2	10 (100%)	–	Н 10/1, Н 10/2	7 (70%)
Зара × 234	F <sub>3</sub>	2	10	–	–	–	–	–
Бірлік КВ × Память ЮКГ	F <sub>3</sub>	6	30	М 15/2, М 15/3, М 15/4, М 15/5, М 20	23 (77%)	–	М 15/2, М 15/3, М 15/4, М 15/5, М 20	22 (73%)
Зара × 583583	F <sub>3</sub>	4	20	Л11/1	2 (10%)	–	–	–
Зара × Устя	F <sub>3</sub>	5	25	Л4/34	1 (4%)	–	Л4/34	4 (16%)
Зара × 470	F <sub>3</sub>	11	55	–	–	–	Л11/4	5 (9%)
Бірлік КВ × Рапа	F <sub>3</sub>	1	5	П-1	3 (60%)	1 (20%)	П-1	3 (60%)
Бірлік × Припяць	F <sub>3</sub>	1	5	П-2	5 (100%)	–	П-2	5 (100%)
Бірлік × Gignon	F <sub>4</sub>	1	5	П-3	2 (40%)	–	П-3	1 (20%)
Бірлік КВ × Память ЮКГ	F <sub>4</sub>	1	5	П-5	4 (80%)	–	П-5	4 (80%)
Бірлік × Tougu	F <sub>3</sub>	1	5	П-6	5 (100%)	–	П-6	5 (100%)
Бірлік × Соер345	F <sub>3</sub>	1	5	П-9	1 (20%)	–	П-9	1 (20%)
Бірлік × Hilario	F <sub>3</sub>	1	5	П-10	4 (80%)	–	П-10	4 (80%)
Зара × Бара	F <sub>3</sub>	1	5	–	–	–	П-12	4 (80%)
Зара × Jhony	F <sub>3</sub>	1	5	–	–	–	П-13	4 (80%)
Зара × Major	F <sub>2</sub>	1	5	П-14	3 (60%)	–	–	–
Зара × Hilario	F <sub>2</sub>	1	5	–	–	–	П-14	1 (20%)
Зара × Соер3	F <sub>3</sub>	1	5	–	–	–	–	–
Зара × Малета	F <sub>3</sub>	16	80	П-19, 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 15	42 (52,5%)	1, 2, 3, 7, 10, 12, 15	П-19, 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 15	42 (53%)
Зара × Устя	F <sub>3</sub>	1	5	–	–	–	П-20	1 (20%)
Зара × Соер 5	F <sub>3</sub>	4	20	1, 2, 4	11 (55%)	–	1, 2, 4	13 (65%)
Итого:		67	335		126 (37,6%)	23 (6,9%)		135 (40,6%)



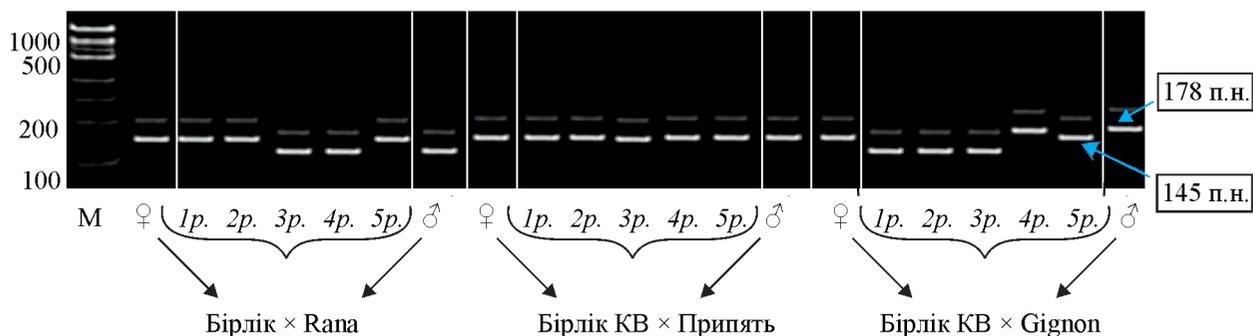
**Рис. 2.** Результаты ПЦР по идентификации аллельной вариации гена *E1* в гибридных популяциях сои с использованием маркера *Satt 365*

**Fig. 2.** PCR results for identification of the allelic variation of the *E1* gene in hybrid soybean populations using the *Satt 365* marker



**Рис. 3.** Результаты ПЦР по идентификации аллельной вариации гена *E3* в гибридных комбинациях Зара × Малета с использованием маркера *Satt 229*

**Fig. 3.** Results of PCR for identification of the allelic variation of the *E3* gene in hybrid combinations of Zара × Maleta using the *Satt 229* marker



**Рис. 4.** Результаты ПЦР по идентификации аллельной вариации гена *E7* в гибридных популяциях с использованием маркера *Satt 100* (178 п.н. аллель *E7*, 145 п.н. аллель *e7*)

**Fig. 4.** PCR results for the identification of the allelic variation of the *E7* gene in hybrid populations using the *Satt 100* marker (178 bp *E7* allele, 145 bp *e7* allele)

несущих рецессивную аллель *e7* из следующих гибридных комбинаций: Бірлік × Rana (П-1), Бірлік × Припять (П-2), Бірлік × Gignon 5 (П-3) (см. рис. 4), Бірлік × Hilario (П-10), Бірлік × Toury (П-6), Бірлік × Память ЮГК (П-5, М 15/2, М 15/3, М 15/4, М 15/5, М 20), Зара × Хорол (Н10/1, Н10-2), Зара × Устя (Л4/34), Зара × 470 (Л11/4), Зара × Бара

(П-12), Зара × Jhony (П-13), Зара × Малета (П-19, 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 13, 15), Ласточка × 234 (ЛТ44/11, ЛТ44/12). Наибольший процент (80%) отобранных растений с рецессивной аллелью *e7* отмечен по комбинациям: Бірлік КВ (*e7*) × Память ЮГК (*E7*), Бірлік (*e7*) × Hilario (*E7*), Зара (*E7*) × Устя (*e7*), Зара (*E7*) × 470 (*e7*).

По итогам исследований, из 355 изученных растений выделено 7, имеющих в генотипе все три ценные рецессивные аллели *ele3e7* в гомозиготном состоянии. Испытание данных образцов будет продолжено в целях получения константных фотопериодически нейтральных линий для северных регионов Республики Казахстан.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Идентифицирована аллельная вариация генов *E1*, *E3*, *E7* у 22 родительских форм сои, используемых в создании скороспелых линий для северных регионов Республики Казахстан. Выделено 10 форм, несущих две рецессивные аллели *ele7*, и сорт Малета, несущий все три рецессивные аллели *ele3e7*.

По итогам изучения 355 растений из 67 гибридных популяций ( $F_2$ – $F_4$ ), на основании маркер-ассоциированного отбора из комбинаций Зара × Малета (1, 2, 7, 15) и Бірлік × Рана (П-1) выделено 9 растений, несущих комплекс ценных рецессивных аллелей *ele3e7*. Идентифицировано 107 растений, несущих ценные рецессивные аллели *ele7*, из комбинаций: Зара × Малета (1, 9, 7, 13), Бірлік × Ниларіо (П-10), Бірлік × Тору (П-6), Бірлік × Память ЮГК (П-5, М15/2, М15/3, М15/4 и М20), Бірлік × Припять (П-2), Ласточка × 234 (ЛТ44/11, ЛТ44/12). Данные образцы рекомендуем для испытания в северных регионах Республики Казахстан как слабочувствительные к фотопериоду линии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zhang S.R., Wang H., Wang Z., Ren Y., Niu L., Liu J., Liu B. Photoperiodism dynamics during the domestication and improvement of soybean // *Science China Life Sciences*. 2017. Vol. 60. P. 1416–1427. DOI: 10.1007/s11427-016-9154-x.
2. Сеферова И.В., Мисюрин Т.В., Никшикина М.А. Эколого-географическая оценка биологического потенциала скороспелых сортов и осевление сои // *Сельскохозяйственная биология*. 2007. № 5. С. 42–47.
3. Lin X., Liu B., Weller L., Abe J., Kong F. Molecular mechanisms for the photoperiodic regulation of flowering in soybean // *Journal of Integrative Plant Biology*. 2020. Vol. 63. Is. 6. pp. 981–994. DOI: 10.1111/jipb.13021.
4. Yang W.Y., Wu T.T., Zhang X.Y., Song W.W., Xu C.L., Sun S., Hou W.S., Jiang B.J., Han T.F., Wu C.X. Critical photoperiod measurement of soybean varieties in different maturity groups // *Crop Science*. 2019. Vol. 59. DOI: 10.2135/cropsci2019.03.0170.
5. Zhang L.X., Liu W., Tsegaw M., Xu X., Qi Y., Enoch S., Liu L., Wu T., Sun Sh., Han T. Principles and practices of the photo-thermal adaptability improvement in soybean // *Journal of integrative agriculture*. 2020. Vol. 19. N. 2. P. 295–310. DOI: 10.1016/S2095-3119(19)62850-9.
6. Синеговская В.Т., Левина А.Н. Влияние продолжительности светового дня на рост, развитие и продуктивность сои // *Дальневосточный аграрный вестник*. 2020. № 2 (54). С. 47–55. DOI: 10.24411/1999-6837-2020-12021.
7. Abugaliyeva S., Didorenko S., Anuarbek S., Volkova L., Gerasimova Y., Sidorik I., Turuspekov Y. Assessment of soybean flowering and seed maturation time in different latitude regions of Kazakhstan // *PLoS ONE*. 2016. Vol. 11. DOI: 10.1371/journal.pone.0166894.
8. Сеферова И.В., Вишнякова М.А. Генотип сои из коллекции ВИР для продвижения агрономического ареала культуры к северу // *Зернобобовые и крупяные культуры*. 2018. № 3. С. 41–47.
9. Давыденко О.Г., Жмурко В.В., Голоенко Д.В., Розенцвейг В.Е., Шаблинская О.В. Изучение фотопериодизма раннеспелых сортов сои // *Селекция і насінництво*. 2004. Т. 88. С. 151–162.
10. Wang F., Nan H., Chen L., Fang Ch., Zhang H., Su T., Li Sh., Cheng Q., Dong L., Liu B., Kong F., Lu S. A new dominant locus, E11, controls early flowering time and maturity in soybean // *Molecular Breeding*. 2019. Vol. 39, N 70. DOI: 10.1007/s11032-019-0978-3.
11. Cober E.R., Voldeng H.D. A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to E1 and T // *Crop Science*. 2001. Vol. 41. P. 698–701. DOI: 10.2135/cropsci2001.413698.
12. Jiang B., Nan H., Gao Y., Tang L., Yue Y., Lu S., Ma L., Cao D., Sun S., Wang J., Wu C., Yuan X., Hou W., Kong F., Han T., Liu B. Allelic combinations of soybean maturity loci E1, E2, E3 and E4 result in diversity of maturity and adaptation to different latitudes // *PLoS ONE*, 2014. Vol. 9(8). DOI: 10.1371/journal.pone.0106042.
13. Xia Z., Watanabe S., Yamada T., Tsubokura Y., Nakashima H., Zhai H. Positional cloning and characterization reveal the molecular basis

- for soybean maturity locus E1 that regulates photoperiodic flowering // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012. Vol. 109, N 32. P. 2155–2164. DOI:10.1073/pnas.1117982109.
14. Tsubokura Y., Watanabe S., Xia Z., Kanamori H., Yamagata H., Kaga A., Katayose Y., Abe J., Ishimoto M., Harada K. Natural variation in the genes responsible for maturity loci E1, E2, E3 and E4 in soybean // *Annals of Botany*. 2014. Vol. 113. P. 429–441. DOI: 10.1093/aob/mct269.
  15. Zhou Z., Jiang Y., Wang Z., Gou Z., Lyu J., Li W., Yu Y., Shu L., Zhao Y., Ma Y., Fang C., Shen Y., Liu T., Li C., Li Q., Wu M., Wang M., Wu Y., Dong Y., Wan W., Wang X., Ding Z., Gao Y., Xiang H., Zhu B., Lee S.H., Wang W., Tian Z. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean // *Nature Biotechnology*. 2015. Vol. 33. P. 408–414. DOI:10.1038/nbt.3096.
  16. Вишнякова М.А., Сеферова И.В., Самсонова М.Г. Требования к исходному материалу для селекции сои в контексте современных биотехнологий // *Сельскохозяйственная биология*. 2017. Т. 52, № 5. С 905–916. DOI: 10.15389/agrobiol.2017.5.905eng.
  17. Дидоренко С.В., Спрягайлова Ю.Н., Аbugалиева А.И. Селекция скороспелых сортов сои на востоке Казахстана // *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2018. Т. 179, № 1. С. 63–77 DOI: 10.30901/2227-8834-2018-1-63-77.
  18. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic Acids Res.* 1980. Vol. 8. P. 4321–4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321.
  19. Molnar S.J., Rai S., Charette M., Cober E.R. Simple sequence repeat (SSR) markers linked to E1, E3, E4, and E7 maturity genes in soybean // *Genome*. 2003. Vol. 46. N 6. P. 1024–1036. DOI: 10.1139/g03-079.
  20. Rosenzweig V.E., Aksyonova E.A., Milash S.B., Goloenko D.V., Davydenko O.G. Prospects of exploiting of photoperiod sensitivity gene E7 in early soybean breeding and revealing of its sources with SSR-markers // *Soybean Genetics Newsletter*. 2008. Vol. 35.
  2. Seferova I.V., Misyurina T.V., Nikishkina M.A. Ecological and geographical assessment of the biological potential of early ripening varieties and soybean northerning. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*, 2007, no. 5, pp. 42–47. (In Russian).
  3. Lin X., Liu B., Weller L., Abe J., Kong F. Molecular mechanisms for the photoperiodic regulation of flowering in soybean. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, vol. 63, is. 6, pp. 981–994. DOI: 10.1111/jipb.13021.
  4. Yang W.Y., Wu T.T., Zhang X.Y., Song W.W., Xu C.L., Sun S., Hou W.S., Jiang B.J., Han T.F., Wu C.X. Critical photoperiod measurement of soybean varieties in different maturity groups. *Crop Science*, 2019, vol. 59. DOI:10.2135/cropsci2019.03.0170.
  5. Zhang L.X., Liu W., Tsegaw M., Xu X., Qi Y., Enoch S., Liu L., Wu T., Sun Sh., Han T. Principles and practices of the photo-thermal adaptability improvement in soybean. *Journal of integrative agriculture*, 2020, vol. 19, no. 2, pp. 295–310. DOI: 10.1016/S2095-3119(19)62850-9.
  6. Sinegovskaya V.T., Levina A.N. Influence of daylight hours on the growth, development and productivity of soybean. *Dal'nevostochnyy agrarnyy vestnik = Far Eastern Agrarian Bulletin*, 2020, no. 2 (54), pp. 47–55. DOI: 10.24411/1999-6837-2020-12021.
  7. Abugaliev S., Didorenko S., Anuarbek S., Volkova L., Gerasimova Y., Sidorik I., Turuspekov Y. Assessment of soybean flowering and seed maturation time in different latitude regions of Kazakhstan. *PLoS ONE*, 2016, vol. 11. DOI: 10.1371/journal.pone.0166894.
  8. Seferova I.V., Vishnyakova M.A. Soybean gene pool from the VIR collection for the promotion of the agronomic area of culture to the north. *Zernobobovye i krupyanye kul'tury = Legumes and groat crops*, 2018, no. 3, pp. 41–47. (In Russian).
  9. Davydenko O.G., Zhmurko V.V., Goloenko D.V., Rozentsveig V.E., Shablinskaya O.V. The study of photoperiodism of early ripening soybean varieties. *Seleksiya i nasinnitstvo = Breeding*, 2004, vol. 88. pp. 151–162. (In Russian).
  10. Wang F., Nan H., Chen L., Fang Ch., Zhang H., Su T., Li Sh., Cheng Q., Dong L., Liu B., Kong F., Lu S. A new dominant locus, E11, controls early flowering time and maturity in soybean. *Molecular Breeding*, 2019, vol. 39, no. 70. DOI: 10.1007/s11032-019-0978-3.
  11. Cober E.R., Voldeng H.D. A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to E1 and T. *Crop Science* 2001, vol. 41, pp. 698–701. DOI: 10.2135/cropsci2001.413698.
  12. Jiang B., Nan H., Gao Y., Tang L., Yue Y., Lu S., Ma L., Cao D., Sun S., Wang J., Wu C., Yuan X.,

## REFERENCES

1. Zhang S.R., Wang H., Wang Z., Ren Y., Niu L., Liu J., Liu B. Photoperiodism dynamics during the domestication and improvement of soybean. *Science China Life Sciences*, 2017, vol. 60, pp. 1416–1427. DOI: 10.1007/s11427-016-9154-x.

- Hou W., Kong F., Han T., Liu B. Allelic combinations of soybean maturity loci E1, E2, E3 and E4 result in diversity of maturity and adaptation to different latitudes. *PLoS ONE*, 2014, vol. 9, no. 8. DOI: 10.1371/journal.pone.0106042.
13. Xia Z., Watanabe S., Yamada T., Tsubokura Y., Nakashima H., Zhai H. Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus E1 that regulates photoperiodic flowering. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012, vol. 109, no. 32, pp. 2155–2164. DOI:10.1073/pnas.1117982109.
  14. Tsubokura Y., Watanabe S., Xia Z., Kanamori H., Yamagata H., Kaga A., Katayose Y., Abe J., Ishimoto M., Harada K. Natural variation in the genes responsible for maturity loci E1, E2, E3 and E4 in soybean. *Annals of Botany*, 2014, vol. 113, pp. 429–441. DOI: 10.1093/aob/mct269.
  15. Zhou Z., Jiang Y., Wang Z., Gou Z., Lyu J., Li W., Yu Y., Shu L., Zhao Y., Ma Y., Fang C., Shen Y., Liu T., Li C., Li Q., Wu M., Wang M., Wu Y., Dong Y., Wan W., Wang X., Ding Z., Gao Y., Xiang H., Zhu B., Lee S.H., Wang W., Tian Z. Resequencing 302 wild and cultivated accessions identifies genes related to domestication and improvement in soybean. *Nature Biotechnology*, 2015, vol. 33, pp. 408–414. DOI: 10.1038/nbt.3096.
  16. Vishnyakova M.A., Seferova I.V., Samsonova M.G. Genetic sources required for soybean breeding in the context of new biotechnologies, *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*, 2017, vol. 52, no. 5, pp. 905–916. (In Russian). DOI: 10.15389/agrobiol.2017.5.905eng.
  17. Didorenko S.V., Spryagalova Yu.N., Abugaliev A.I. Breeding of early maturing soybean varieties in east Kazakhstan. *Trudy po prikladnoi botanike, genetike i seleksii = Proceedings on applied botany, genetics and breeding*, – 2018, vol. 179, no. 1, pp. 63–77. (In Russian). DOI: 10.30901/2227-8834-2018-1-63-77.
  18. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res*, 1980, vol. 8, pp. 4321–4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321.
  19. Molnar S.J., Rai S., Charette M., Cober E.R. Simple sequence repeat (SSR) markers linked to E1, E3, E4, and E7 maturity genes in soybean *Genome*, 2003, vol. 46, no. 6, pp. 1024–1036. DOI: 10.1139/g03-079.
  20. Rosenzweig V.E., Aksyonova E.A., Milash S.B., Goloenko D.V., Davydenko O.G. Prospects of exploiting of photoperiod sensitivity gene E7 in early soybean breeding and revealing of its sources with SSR-markers. *Soybean Genetics Newsletter*, 2008, vol. 35.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Ержебаева Р.С.**, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией; **адрес для переписки:** Республика Казахстан, 040909, Алматинская область, Карасайский район, пос. Алматыбак, ул. Ерлепесова, 1; e-mail: raushan\_2008@mail.ru

**Бабисекова Д.И.**, магистр, научный сотрудник  
**Дидоренко С.В.**, кандидат биологических наук, профессор, заведующий лабораторией

## AUTHOR INFORMATION

✉ **Raushan S. Yerzhebayeva**, Candidate of Science in Biology, Laboratory Head; **address:** 1, Erlepesova St., Almalybak, Karasaisky District, Almaty Region, 040909, Republic of Kazakhstan; e-mail: raushan\_2008@mail.ru

**Dilyara I. Babissekova**, Master, Researcher  
**Svetlana V. Didorenko**, Candidate of Science in Biology, Professor, Laboratory Head

Дата поступления статьи / Received by the editors 05.05.2022  
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 24.06.2022  
Дата публикации / Published 25.11.2022