

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

## Разработка панели маркеров для генотипирования отечественных сортов сои по генам, контролирующим срок вегетации и реакцию на фотопериод

Р.Н. Перфильев , А.Б. Щербань, Е.А. Салина


Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия  
 PerfiljevRN@bionet.nsc.ru

**Аннотация.** Соя (*Glycine max* L.) – одна из важнейших сельскохозяйственных культур, выращиваемая в большом диапазоне географической широты. В связи с этим в селекции сои необходимо обращать внимание на набор генов, контролирующих переход к фазе цветения, что позволит максимально точно адаптировать генотипы к локальным условиям произрастания. В настоящее время возможности селекции сои по данному признаку значительно расширились благодаря идентификации в ее геноме основных генов (*E1–E4*, *GmFT2a*, *GmFT5a*), контролирующих процессы цветения и созревания в зависимости от длины дня. Целью нашей работы являлось создание панели маркеров к этим генам, которая может быть использована для быстрого и эффективного генотипирования отечественных сортов сои и отбора растительного материала по признакам чувствительности к длине дня и продолжительности вегетационного периода. Проведено тестирование 10 комбинаций праймеров (как ранее разработанных, так и собственных) для выявления различных аллельных состояний генов *E1–E4*, *GmFT2a* и *GmFT5a* на выборке из 10 сортов сои из различных групп спелости. В итоге выявлено пять комбинаций доминантных и рецессивных аллелей по генам *E1–E4*: 1) *e1-nl(e1-as)/e2-ns/e3-tr(e3-fs)/e4*; 2) *e1-as/e2-ns/e3-tr/E4*; 3) *e1-as/e2-ns/E3-Ha/e4*; 4) *E1/e2-ns/e3-tr/E4*; 5) *e1-nl/e2-ns/E3-Ha/E4*. Проанализированные сорта содержали наиболее распространенные аллели генов *GmFT2a* и *GmFT5a*, за исключением сорта Кассиди, у которого был обнаружен редкий доминантный аллель *GmFT5a-H4*. Степень скороспелости сортов положительно коррелировала с количеством рецессивных генов *E1–E4*, что согласуется с данными зарубежных авторов, полученными на выборках сортов из Японии и Северного Китая. Таким образом, разработанная панель маркеров может успешно использоваться в селекции сои на скороспелость и чувствительность к фотопериоду. Ключевые слова: фотопериод; срок цветения; маркер гена; аллель-специфичные праймеры; несинонимичная замена; индель; сорт; соя; группа спелости.

**Для цитирования:** Перфильев Р.Н., Щербань А.Б., Салина Е.А. Разработка панели маркеров для генотипирования отечественных сортов сои по генам, контролирующим срок вегетации и реакцию на фотопериод. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(7):761-769. DOI 10.18699/VJ21.087

## Development of a marker panel for genotyping of domestic soybean cultivars for genes controlling the duration of vegetation and response to photoperiod

R.N. Perfil'ev , A.B. Shcherban, E.A. Salina

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia  
 PerfiljevRN@bionet.nsc.ru

**Abstract.** Soybean, *Glycine max* L., is one of the most important agricultural crops grown in a wide range of latitude. In this regard, in soybean breeding, it is necessary to pay attention to the set of genes that control the transition to the flowering stage, which will make it possible to adapt genotypes to local growing conditions as accurately as possible. The possibilities of soybean breeding for this trait have now significantly expanded due to identification of the main genes (*E1–E4*, *GmFT2a*, *GmFT5a*) that control the processes of flowering and maturation in soybean, depending on the day length. The aim of this work was to develop a panel of markers for these genes, which could be used for a rapid and efficient genotyping of domestic soybean cultivars and selection of plant material based on sensitivity to photoperiod and the duration of vegetation. Combinations of 10 primers, both previously developed and our own, were tested to identify different alleles of the *E1–E4*, *GmFT2a*, and *GmFT5a* genes using 10 soybean cultivars from different maturity groups. As a result, 5 combinations of dominant and recessive alleles for the *E1–E4* genes were identified: (1) *e1-nl(e1-as)/e2-ns/e3-tr(e3-fs)/e4*; (2) *e1-as/e2-ns/e3-tr/E4*; (3) *e1-as/e2-ns/E3-Ha/e4*; (4) *E1/e2-ns/e3-tr/E4*; (5) *e1-nl/e2-ns/E3-Ha/E4*. The studied cultivars contained the most common alleles of the *GmFT2a* and *GmFT5a* genes, with the exception of the 'Cassidi' cultivar having a rare dominant allele *GmFT5a-H4*. The degree of earliness of cultivars positively correlated with the number of recessive genes *E1–E4*, which is consistent with the data of foreign authors on different sets of

cultivars from Japan and North China. Thus, the developed panel of markers can be successfully used in the selection of soybean for earliness and sensitivity to photoperiod.

Key words: photoperiod; flowering period; allele-specific primers; nonsynonymous substitution; indel; cultivar; soybean; maturity group.

**For citation:** Perfil'ev R.N., Shcherban A.B., Salina E.A. Development of a marker panel for genotyping of domestic soybean cultivars for genes controlling the duration of vegetation and response to photoperiod. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(7):761-769. DOI 10.18699/VJ21.087

## Введение

Род *Glycine* объединяет два подрода – *Soja* и *Glycine*. К первому относятся вид *Glycine soja* ( $2n = 4x = 40$ ), или уссурийская соя, – дикорастущее однолетнее растение из Юго-Восточной Азии, и произошедший от него культурный вид *Glycine max* L. ( $2n = 4x = 40$ ) (Вавилов, 1926; Жуковский, 1964).

Сою выращивают во многих странах мира для пищевых, кормовых и технических целей благодаря ее особым питательным свойствам, в том числе высокому содержанию белка (30–52 %). По этому показателю соя превосходит все возделываемые культуры, за исключением люпина: пшеница – 9–26 %, рис – 7 %, кукуруза – 10 % и др. Ценность белка сои определяется содержанием незаменимых аминокислот, сумма которых составляет ~20 % от массы суммарного белка, тогда как у пшеницы – 18 % (Gorissen et al., 2018). По степени усвояемости белок сои имеет наивысший индекс – 1, соответствующий белкам молока, яиц, казеину и в несколько раз превышающий аналогичный показатель у зерновых культур (0.25–0.4) (Hoffman, Falvo, 2004).

Первые сведения о возделывании сои в Китае относятся к шестому тысячелетию до н. э. Как основное сырье для получения растительного белка и масла она распространилась в других странах Юго-Восточной Азии: Индии, Корее, Японии, Индонезии, где были разработаны разнообразные способы ее употребления в пищу. В конце VIII в. соя была интродуцирована в Европу. На Дальний Восток сою завезли из Китая, в СССР эта культура была внедрена в производство в 1927 г.

По мировой площади посевов соя занимает первое место среди зернобобовых культур – 122 млн га по данным 2019 г. (<https://www.kleffmann.com/>). Мировыми лидерами производства сои являются Бразилия и США. Площадь посевов в этих странах составляет 37 и 31 млн га соответственно, средняя урожайность – 3.3 т/га. По данным Федеральной службы государственной статистики (Росстат, <https://rosstat.gov.ru/>), в России в 2019 г. общая площадь посевов достигала ~3 млн га, урожайность – 1.0–2.0 т/га. За пять лет площадь посевов сои в России увеличилась на 51 %. При этом валовой сбор бобов возрос в 1.6 раза: с 2.64 млн т в 2015 г. до 4.36 млн т в 2019 г.

Потенциал повышения урожайности сои в России довольно высок и может быть реализован как модернизацией агротехнических приемов возделывания, так и селекцией новых сортов, более адаптированных к специфическим климатическим условиям конкретных регионов (приоритетное направление). Важную роль в адаптации играет совместимость фаз развития с оптимальными для каждой фазы режимами температуры. Соя относится к теплолюбивым растениям, поскольку оптимальная температура

для ее роста в фазу вегетации составляет +20...+25 °С, для прорастания семян – +12...+14 °С. Всходы способны выдерживать заморозки до –3 °С. Наибольшая потребность в тепле отмечается в период цветения и созревания бобов, оптимальная температура в этот период +18...+20 °С.

Соя возделывается в значительном широтном диапазоне – от 55° с. ш. до 35° ю. ш. Однако площадь возделывания каждого сорта, как правило, ограничена очень узким диапазоном, не более 1° (Агаркова и др., 2016). Связано это с сильной реакцией на фотопериод. Для перехода к цветению соя, как южное растение, требует короткого дня. В северных широтах, при длинном дне, у чувствительных к фотопериоду сортов цветение задерживается и бобы не успевают созреть до наступления осенних заморозков. Снижение чувствительности к фотопериоду позволяет растениям начинать цветение раньше и проходить процесс созревания в оптимальный период. С другой стороны, в южных широтах, при коротком дне и теплой погоде, соя зацветает слишком рано и не успевает сформировать достаточную вегетационную массу, необходимую для получения высокого урожая.

Модуляция вегетационного периода в зависимости от широты местности достигается подбором эффективной для этой местности комбинации аллелей генов, которые отвечают за фотопериодическую реакцию и переход растения к процессам цветения и созревания. К настоящему времени идентифицирована серия генов *E1–E11*, влияющих на указанные признаки (Jia et al., 2014; Tsubokura et al., 2014; Zhai et al., 2014; Samanfar et al., 2017; Wang et al., 2019). Наиболее детально установлена функция генов *E1–E4*, которые непосредственно вовлечены в регуляцию как самого процесса цветения, так и следующего за ним процесса созревания под действием фотопериода (Xu et al., 2013). Комбинации аллелей этих четырех генов объясняют 62–66 % вариаций в длине вегетационного периода у сортов сои (Tsubokura et al., 2014). Ген *E1* является репрессором цветения и кодирует транскрипционный фактор, содержащий предполагаемый сигнал ядерной локализации и ДНК-связывающий домен В3 (Watanabe et al., 2012; Xu et al., 2015). Ген *E2* – ортолог гена-регулятора цветения *GIGANTEA* арабидопсиса (Watanabe et al., 2011). Гены *E3* и *E4* кодируют белки фитохрома А: *GmPHYA3* и *GmPHYA2* соответственно (Liu et al., 2008). Рецессивные аллели генов *E1–E4* возникли в результате мутаций (сдвиги рамки считывания, несинонимичные замены, делеции), приводящих к нарушению функции белков, что вызывает нечувствительность к фотопериоду (Xu et al., 2013).

У сои были идентифицированы 12 генов *GmFT*, гомологичных гену-активатору цветения *FT* (*FLOWERING LOCUS T*) арабидопсиса (Kong et al., 2010; Wu et al., 2017). Гены этого семейства *GmFT2a* и *GmFT4* были картирова-

ны как гены созревания *E9* и *E10* соответственно (Zhao et al., 2016; Samanfar et al., 2017). Наиболее сильное влияние на время цветения оказывают гены *GmFT2a* и *GmFT5a* (Guo et al., 2015; Takeshima et al., 2016). Было предложено несколько сигнальных путей регуляции цветения сои в зависимости от фотопериода, в том числе специфический для бобовых регуляторный путь с участием гена *E1*. Согласно этому пути, на длинном световом дне фоторецепторы *E3* и *E4* обеспечивают чувствительность к свету и индуцируют экспрессию гена *E1* и его гомолога *E1L*, которые подавляют экспрессию *GmFT5a* и *GmFT2a*, что приводит к задержке цветения (Zhu et al., 2019).

Таким образом, ранее проведенный анализ основных генов, участвующих в регуляции вегетационного периода у сои, позволил выявить различные доминантные и рецессивные аллели этих генов, обуславливающие различную чувствительность к фотопериоду, и разработать аллель-специфичные маркеры. Целью настоящей работы было создание панели данных маркеров, которую можно использовать для быстрого и эффективного генотипирования отечественных сортов сои и отбора растительного материала по признакам чувствительности к длине дня и продолжительности вегетационного периода.

## Материалы и методы

Материалом исследования послужили 10 сортов сои с различной длиной вегетационного периода. Семена четырех сортов были предоставлены ФГБНУ СибНИИ кормов

СФНЦА РАН (г. Новосибирск), шести сортов – компанией «ЭФКО» (пос. Алексеевка, Белгородская область). Названия, генотипы и сроки вегетации сортов приведены в табл. 1.

Тотальную ДНК выделяли из 4-дневных индивидуальных проростков, выращенных на влажной фильтровальной бумаге в чашках Петри. Выделение ДНК выполняли согласно методике, описанной в работе (Kiseleva et al., 2016). Количество ДНК определяли с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, США).

Для анализа различных аллелей исследуемых генов использовали аллель-специфичные праймеры, синтезированные в компании «Биоссет» (Новосибирск) (табл. 2). ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси с помощью коммерческого набора для ПЦР с HS-Taq («Биолабмикс», Новосибирск). Реакционная смесь содержала 50–100 нг ДНК-матрицы, 1× ПЦР-буфер, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, по 0.2 mM каждого dNTP, по 0.5 mM каждого праймера, 1 е. а. HS-Taq ДНК-полимеразы. Условия ПЦР: 5 мин при 95 °C; 35–40 циклов (95 °C, 10 с; 55–60 °C, 20 с; 72 °C, 30–40 с); 5 мин при 72 °C. Продукты ПЦР разделяли с помощью электрофореза в 1 % агарозном геле, содержащем бромистый этидий.

Для анализа гена *E2* использовали CAPS-маркер, описанный в статье (Watanabe et al., 2011). Продукт ПЦР, полученный с помощью *E2*-специфических праймеров, обрабатывали эндонуклеазой рестрикции *Dra* I («Сиб-Энзим», Новосибирск). Для этого в ПЦР-смесь, содер-

**Таблица 1.** Генотипы проанализированных сортов сои по генам *E1–E4*, *GmFT*

Сорт, регион	Генотип						Группа спелости (диапазон вегетационного периода/ среднее значение*)
	<i>E1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>E4</i>	<i>E9</i> ( <i>GmFT2a</i> )	<i>GmFT5a</i>	
Аннушка, Белгородская область	<i>e1-as</i>	<i>e2-ns</i>	<i>e3-tr</i>	<i>e4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Ультраскороспелый/очень скороспелый (75–85/80)
Бара, Белгородская область	<i>e1-as</i>	<i>e2-ns</i>	<i>e3-tr</i>	<i>e4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Ультраскороспелый/очень скороспелый (85–95/90)
Горинская, Западная Сибирь	<i>e1-nl</i>	<i>e2-ns</i>	<i>e3-fs</i> <i>e3-tr</i>	<i>e4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Скороспелый (92)
СибНИИК-9, Западная Сибирь	<i>e1-nl</i>	<i>e2-ns</i>	<i>e3-fs</i>	<i>e4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Скороспелый (90–98/94)
СибНИИК-315, Западная Сибирь	<i>e1-nl</i>	<i>e2-ns</i>	<i>e3-fs</i>	<i>e4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Скороспелый (98–105/102)
Чера-1, Белгородская область	<i>e1-as</i>	<i>e2-ns</i>	<i>e3-fs</i>	<i>E4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Скороспелый (94–116/105)
Персона, Западная Сибирь	<i>E1</i>	<i>e2-ns</i>	<i>e3-tr</i>	<i>E4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Скороспелый (103–109/106)
Белгородская 48, Белгородская область	<i>e1-as</i>	<i>e2-ns</i>	<i>E3-Ha</i>	<i>e4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Скороспелый/среднескороспелый (98–119/108)
Малага, Белгородская область	<i>e1-as</i>	<i>e2-ns</i>	<i>e3-tr</i>	<i>E4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H1</i>	Среднескороспелый (110–115/112)
Кассиди, Белгородская область	<i>e1-nl</i>	<i>e2-ns</i>	<i>E3-Ha</i>	<i>E4</i>	<i>E9</i>	<i>GmFT5a-H4</i>	Среднескороспелый (110–120/115)

\* Сроки вегетации сортов на длинном дне взяты на сайте Государственного реестра селекционных достижений (<https://reestr.gossortrf.ru/>). Группы спелости приведены согласно общепринятой отечественной классификации (Корсаков, 1973).

**Таблица 2.** Праймеры, использованные в работе

Ген/аллель	Последовательности праймеров	Длина ПЦР-продуктов, п. н.	T отжига, °C	Источник
<i>E1/e1-fs/e1-nl*</i>	E1F1:CACTCAAATTAAGCCCTTTCA E1R1:TCCGATCTCATCACCTTTCC	547	55	Xia et al., 2012
<i>e1-as</i>	e1asF:GGGAGCAGTGTCAAAAGAAGAC e1asR:GTGCTATCCCTTAGTTAAATTAAT	<i>e1-as</i> : 1403 <i>e1-nl</i> : – <i>E1</i> : –	60	Разработаны авторами
<i>E1</i>	E1F: GGGAGCAGTGTCAAAAGAAGAG E1R: GTGCTATCCCTTAGTTAAATTAATA	<i>E1</i> : 1403 <i>e1-as</i> : – <i>e1-nl</i> : –	60	
<i>E2**</i>	E2F:GAAGCCCATCAGAGGCATGTCTTATT E2R: AAGCCTATGCCAGCTAGGTATT	<i>E2</i> : 130 <i>e2</i> : 107+23	55	Watanabe et al., 2011
<i>E3</i>	E3F: TGGAGGGTATTGGATGATGC E3R1: CTAAGTCCGCCTCTGGTTTCAG E3R2: CCGTCAAGAGCCAACATGAG E3R3:GTCCTATACAATTCTTTACGACG	<i>E3-Mi</i> : 1339 <i>E3-Ha</i> : 558 <i>e3-tr</i> : 275	58	Watanabe et al., 2009
<i>E3/e3-fs*</i>	E3fsF:GGGATAGTCTGATGCTGTTCAA E3fsR:CCTTGATCGATAGCATATGTGCT	<i>E3</i> : 758 <i>e3-fs</i> : 759	55	Xu et al., 2013
<i>E4</i>	E4F: AGACGTAGTGCTAGGGCTAT E4R1: GCATCTCGCATCACCAGATCA E4R2: GCTCATCCCTTCGAATTCAG	<i>E4</i> : 1229 <i>e4-SORE-1</i> : 837	58	Liu et al., 2008
<i>E9</i> ( <i>GmFT2a</i> )	E9F1:GCTCTCTCTTCCACTCTCTAGATGG E9F2: ACCCTCTCAAGTGGACATGT E9R: CTAGGTGCATCGGGATCAAC	<i>E9</i> : 440 <i>e9</i> : 307	60	Zhao et al., 2016
<i>GmFT5a-H1/</i> <i>GmFT5a-H4*</i>	FT5aF: GCATGGTTCATACATACTACAGGG FT5aR: AACTCAGTTGCGTACACATGCTG	<i>GmFT5a-H1</i> : 379 <i>GmFT5a-H4</i> : 330	60	Разработаны авторами

\* Комбинации, использованные для секвенирования.

\*\* CAPS-маркер с рестриктазой *Dra* I.

жашую продукт ПЦР, добавляли 1 е.а. фермента и инкубировали при 37 °C в течение ночи. Для разделения продуктов рестрикции применяли 2 % агарозный гель. Фрагменты ДНК после электрофореза в агарозном геле визуализировали и фотографировали в УФ-свете с помощью Gel Doc™ XR+ (BioRad, США).

Для анализа первичной структуры продукты ПЦР вырезали из геля и очищали с помощью коммерческого набора для элюции ДНК из агарозного геля *diaGene* (ДиаМ, Россия) согласно протоколу производителя. Нуклеотидные последовательности продуктов ПЦР определяли с использованием реактива BigDye terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems, США) и соответствующих специфических праймеров. Секвенирование выполняли в ЦКП «Геномика» СО РАН на автоматическом капиллярном анализаторе ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Полученные нуклеотидные последовательности сравнивали с помощью программы BLASTN с последовательностями из базы данных NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей ДНК проводили в программе CLUSTAL Omega (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>).

## Результаты

Ранее в ряде работ была детально проанализирована структурная организация генов, определяющих длину

вегетационного периода у сои, включая *E*-гены, а также гены *GmFT* семейства (Liu et al., 2008; Xu et al., 2013; Jiang et al., 2014, 2019; Tsubokura et al., 2014). Разработаны молекулярные маркеры (ПЦР, CAPS) для идентификации различных аллелей данных генов, включая доминантные аллели *E1–E4* у чувствительных к фотопериоду образцов и рецессивные, обуславливающие нечувствительность к фотопериоду и укороченный срок вегетации. В нашем исследовании мы апробировали эти маркеры на выборке из допущенных к использованию в РФ сортов сои для создания панели, позволяющей проводить ускоренный скрининг сортов по признаку чувствительности к фотопериоду, а также их генотипирование по всем указанным генам.

Для анализа гена *E1* мы изначально применили комбинацию общих для доминантных и рецессивных аллелей праймеров E1F1/E1R1 (см. табл. 2), ограничивающих короткий участок кодирующей последовательности. Этот участок содержит SNP, специфичные для двух распространенных рецессивных аллелей *E1*: *e1-fs* и *e1-as* (Xia et al., 2012). После ПЦР у 6 сортов был выявлен интенсивный продукт длиной 547 п. н, а у других 4 сортов продукт ПЦР не обнаруживался (результат не представлен). Далее мы провели анализ первичной структуры полученного ПЦР-продукта у 6 сортов, который показал наличие у 5 сортов аллеля *e1-as*, а у сорта Персона – аллеля *E1*. Рецессивный аллель *e1-as* характеризуется присутствием



*e1-as* (AB552966) GTCAAAAAGAAGACGAAATCCACCATATGCGAAGCCTCTAACTTTAGGACATCAAGGAGAA  
Belgorodskaya 48 GTCAAAAAGAAGACGAAATCCACCATATGCGAAGCCTCTAACTTTAGGACATCAAGGAGAA  
Annushka GTCAAAAAGAAGACGAAATCCACCATATGCGAAGCCTCTAACTTTAGGACATCAAGGAGAA  
Chera-1 GTCAAAAAGAAGACGAAATCCACCATATGCGAAGCCTCTAACTTTAGGACATCAAGGAGAA  
Malaga GTCAAAAAGAAGACGAAATCCACCATATGCGAAGCCTCTAACTTTAGGACATCAAGGAGAA  
*E1* (AB552962) GTCAAAAAGAAGGAAATCCACCATATGCGAAGCCTCTAACTTTAGGACATCAAGGAGAA  
*e1-as* GTCAAAAAGAAGGAAATCCACCATATGCGAAGCCTCTAACTTTAGGACATCAAGGAGAA  
\*\*\*\*\*

**Рис. 1.** Множественное выравнивание участка гена *E1*, содержащего однонуклеотидную замену, характерную для рецессивного аллеля *e1-as*.

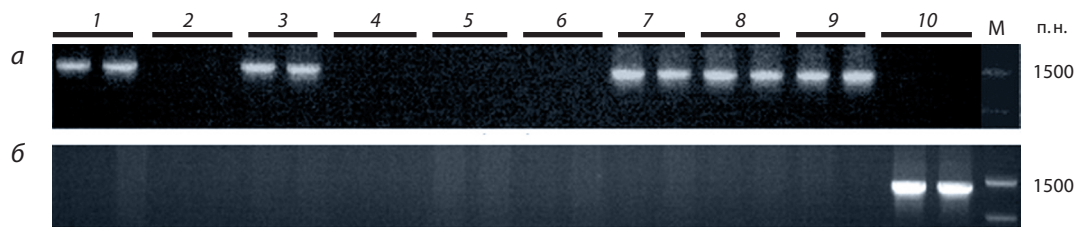
*E1* и *e1-as* – последовательности гена *E1* сорта Harosoy *G. max* (AB552962 и AB552966 соответственно).

нуклеотидной замены G→C относительно доминантного аллеля *E1* (рис. 1). На основе известных последовательностей гена *E1* из баз данных нами были разработаны аллель-специфичные праймеры *e1asF/e1asR*, позволяющие идентифицировать аллель *e1-as* по наличию продукта длиной 1403 п.н. (см. табл. 2). Результат ПЦР с этими праймерами представлен на рис. 2, а. Другая пара праймеров (*E1F/E1R*) на тот же участок гена, специфичная для доминантного аллеля *E1*, дала продукт амплификации только у сорта Персона, который может быть взят в качестве контроля *E1* (см. рис. 2, б). Отсутствие продукта амплификации во всех случаях использования праймеров к различным участкам гена *E1* у сортов Кассиди, СибНИИК-9, СибНИИК-315 и Горинская можно объяснить полной делецией гена, а именно наличием аллеля *e1-nl* (Xia et al., 2012).

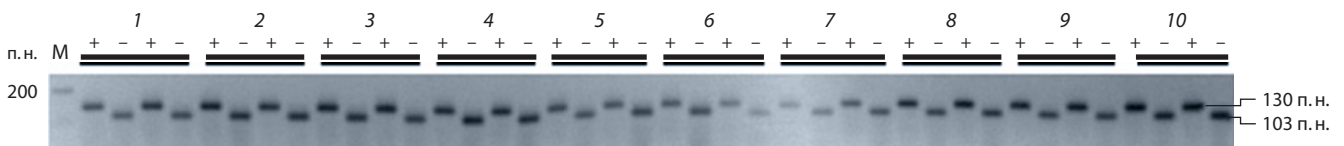
По гену *E2* сорта были генотипированы с помощью CAPS-маркера (см. табл. 2). В случае доминантного аллеля ПЦР-продукт длиной 130 п.н. не подвергается рестрикции эндонуклеазой *Dra I*. У рецессивного аллеля *e2* из-за нуклеотидной замены А→Т появляется сайт рестрикции *Dra I* и в результате гидролиза ПЦР-продукта образуются фрагменты ДНК длиной 27 и 103 п.н. Рецессивный аллель *e2* обнаружен во всех исследованных образцах (рис. 3).

У гена *E3* самый распространенный рецессивный аллель *e3-tr* характеризуется делецией в 13 т. п.н. после третьего экзона (Watanabe et al., 2009). Доминантные аллели *E3-Mi* и *E3-Ha* имеют одинаковый эффект на фенотип растения, но различаются инсерцией ретранспозона в третьем интроне у аллеля *E3-Ha*. Маркер (см. табл. 2) на данный ген позволяет одновременно определять оба доминантных и рецессивный аллели по гену *E3*. С использованием этого маркера у сортов Аннушка, Бара, Персона и Малага, а также у одного растения сорта Горинская был выявлен характерный для рецессивного аллеля продукт амплификации длиной 275 п.н. (рис. 4). У остальных образцов продукт ПЦР соответствовал доминантному аллелю *E3-Ha* (см. рис. 4).

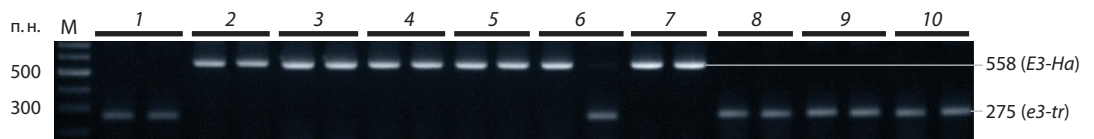
Помимо делеции 13 т. п.н., для *E3* известны другие мутации, приводящие к образованию рецессивных аллелей. Среди них самый распространенный – аллель *e3-fs* с инсерцией нуклеотида Т в первом экзоне, приводящей к сдвигу рамки считывания и образованию нефункционального белка (Xu et al., 2013). Данная мутация была



**Рис. 2.** Электрофореграмма ПЦР-продуктов, полученных с помощью праймеров *e1-asF/e1-asR* (а) и *E1F/E1R* (б). Здесь и далее нумерация образцов: 1 – сорт Аннушка; 2 – Кассиди; 3 – Белгородская 48; 4 – СибНИИК-9; 5 – СибНИИК-315; 6 – Горинская; 7 – Чера-1; 8 – Бара; 9 – Малага; 10 – Персона; М – маркер длины. По каждому сорту анализировали два индивидуальных растения.



**Рис. 3.** Электрофореграмма CAPS-маркера гена *E2*. Каждый образец растений представлен ПЦР-продуктом до (+) и после (–) рестриктазной обработки.



**Рис. 4.** Электрофореграмма ПЦР-продуктов гена *E3*. Продукт длиной 558 п.н. соответствует доминантному аллелю *E3-Ha*, длиной 275 п.н. – рецессивному аллелю *e3-tr*.

E3 (AB797201)	AGATTATTGAGAAGAACATCCTGCAAACCTCAAACACTC-TTGTGTGATATGCT
Belgorodskaya 48	AGATTATTGAGAAGAACATCCTGCAAACCTCAAACACTC-TTGTGTGATATGCT
Cassidi	AGATTATTGAGAAGAACATCCTGCAAACCTCAAACACTC-TTGTGTGATATGCT
e3-fs (AB766210)	AGATTATTGAGAAGAACATCCTGCAAACCTCAAACACTCTTTGTGTGATATGCT
Chera-1	AGATTATTGAGAAGAACATCCTGCAAACCTCAAACACTCTTTGTGTGATATGCT
Gorinskaya	AGATTATTGAGAAGAACATCCTGCAAACCTCAAACACTCTTTGTGTGATATGCT
SibНИИК-315	AGATTATTGAGAAGAACATCCTGCAAACCTCAAACACTCTTTGTGTGATATGCT

**Рис. 5.** Множественное выравнивание участка первого экзона гена *E3*, содержащего инсерцию Т, приводящую к сдвигу рамки считывания.

Референсные последовательности аллелей *e3-fs* (AB766210) и *E3* (AB797201).

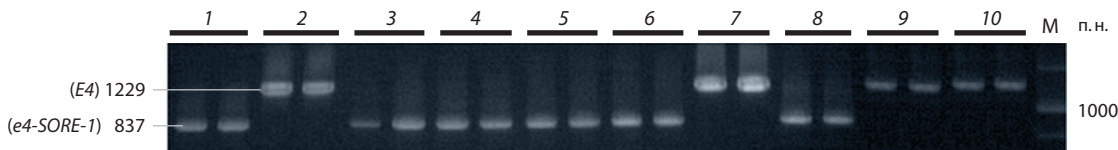
проверена у всех сортов с продуктом, характерным для аллеля *E3-Ha* (см. выше), с помощью секвенирования ПЦР-продукта длиной 759/758 п. н., полученного с праймерами E3fsF/E3fsR (см. табл. 2, результат ПЦР не представлен). Выяснилось, что сорта СибНИИК-9, СибНИИК-315, Горинская и Чера-1 являются носителями аллеля *e3-fs*, а у сортов Кассиди и Белгородская 48 секвенированная последовательность полностью гомологична доминантному аллелю *E3-Ha* (рис. 5).

Наиболее распространенный из рецессивных аллелей гена *E4*, аллель *e4-SORE-1* возник вследствие инсерции *Tu1/copia*-ретротранспозона длиной 6238 п. н. в первый экзон (Liu et al., 2008). Маркер на данный ген позволяет выявить одновременно доминантный и рецессивный аллели *E4* по наличию ПЦР-продуктов длиной 1229 и 837 п. н. соответственно (см. табл. 2). ПЦР с использованием этого

маркера позволила выявить доминантный аллель у сортов Кассиди, Чера-1, Малага и Персона, тогда как у остальных сортов идентифицируется рецессивный аллель (рис. 6).

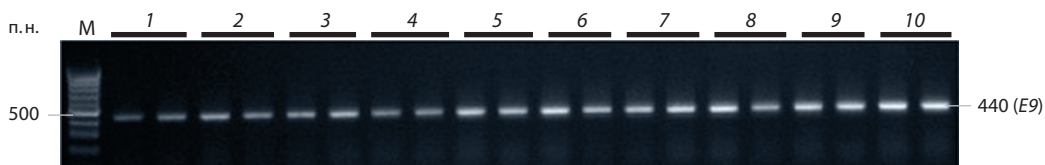
Ранее были разработаны маркеры к генам-активаторам цветения: *GmFT2a*, или гену *E9* (Zhao et al., 2016), и *GmFT5a* (Takeshima et al., 2016). Рецессивный аллель *e9* задерживает цветение за счет более низкой экспрессии гена, вызванной инсерцией ретротранспозона *SORE-1* в первый интрон (Zhao et al., 2016). Маркер (см. табл. 2) позволяет дискриминировать рецессивный и доминантный аллели *GmFT2a* по наличию ПЦР-продуктов длиной 440 и 307 п. н. соответственно. С использованием этого маркера у всех проанализированных образцов был выявлен характерный для доминантного аллеля *GmFT2a* продукт амплификации длиной 440 п. н. (рис. 7).

Существует доминантный аллель гена *GmFT5a* – *GmFT5a-H4*, сокращающий срок вегетации и отличающийся от рецессивного аллеля делецией 49 п. н. в составе 3'-UTR (Takeshima et al., 2016; Jiang et al., 2019). Для идентификации обоих аллелей *GmFT5a* нами разработана комбинация праймеров FT5aF/FT5aR, позволяющая амплифицировать участок делеции (см. табл. 2). Продукт 330 п. н., соответствующий доминантному аллелю, был обнаружен только у сорта Кассиди, у остальных сортов выявлен продукт длиной 379 п. н., соответствующий рецессивному аллелю (рис. 8). Для дополнительного уточнения установленных аллелей *GmFT5a* нами проведено секвенирование ПЦР-продукта у сортов Кассиди и Белгородская 48, согласно которому сорт Кассиди действительно содержал аллель *GmFT5a-H4* (данные не представлены).



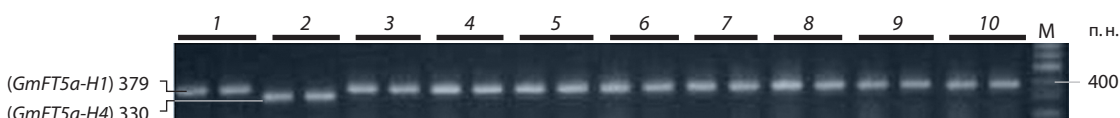
**Рис. 6.** Электрофореграмма ПЦР-продуктов гена *E4*.

Продукт длиной 1229 п. н. соответствует доминантному аллелю *E4*, длиной 837 п. н. – рецессивному аллелю *e4-SORE-1*.



**Рис. 7.** Электрофореграмма ПЦР-продукта гена *GmFT2a*.

Продукт длиной 440 п. н. соответствует доминантному аллелю этого гена.



**Рис. 8.** Электрофореграмма ПЦР-продуктов гена *GmFT5a*, полученного с праймерами GmFT5af2/r2.

Продукт длиной 379 п. н. соответствует рецессивному аллелю *GmFT5a-H1*, длиной 330 п. н. – доминантному аллелю *GmFT5a-H4*.

## Обсуждение

Высокий потенциал адаптации сои позволяет успешно культивировать ее за пределами первичного ареала – в широком диапазоне климатических условий, включая высокоширотные регионы с умеренным климатом (Jia et al., 2014; Jiang et al., 2014). Такая адаптация во многом достигается за счет взаимодействия аллелей генов, контролирующих сроки цветения и созревания в зависимости от длины фотопериода (Saindon et al., 1989; Watanabe et al., 2012).

Период вегетации сои составляет от 75 до 170 дней. В зависимости от продолжительности этого периода сорта сои подразделяются на ультраскороспелые (менее 80 дней); очень скороспелые (81–90 дней); скороспелые (91–110 дней); среднескороспелые (111–120 дней); среднепоздние (120–130 дней); среднепоздние (131–150 дней); позднеспелые (151–160 дней); очень позднеспелые (161–170 дней) (Корсаков, 1973). В пределах России соя культивируется на Дальнем Востоке, в Центральном, Южном и Сибирском регионах. Каждый район произрастания характеризуется своими особенностями климата, следовательно, возникает необходимость отбора сортов, специфически адаптированных к той или иной территории с помощью эффективных методов маркер-опосредованной селекции. Для демонстрации ее возможностей и создания рабочей панели маркеров мы провели апробацию ранее разработанных комбинаций праймеров к основным генам ответа на фотопериод – *E1–E4*, и генам-активаторам цветения *GmFT* (Takeshima et al., 2016; Wu et al., 2017). Для этого использовали выборку из 10 сортов, различающихся по сроку созревания: от ультраскороспелого сорта Аннушка до среднескороспелого сорта Кассиди (средний период вегетации 80 и 115 дней соответственно). Установленные генотипы этих сортов по всем изученным генам представлены в табл. 1. Всего в данной выборке было выявлено пять комбинаций аллелей по генам *E1–E4*: 1) *e1-nl(e1-as)/e2-ns/e3-tr(e3-fs)/e4*; 2) *e1-as/e2-ns/e3-tr/E4*; 3) *e1-as/e2-ns/E3-Ha/e4*; 4) *E1/e2-ns/e3-tr/E4*; 5) *e1-nl/e2-ns/E3-Ha/E4*.

Все проанализированные сорта содержали наиболее распространенные доминантные и рецессивные аллели генов *GmFT2a* и *GmFT5a*, за исключением сорта Кассиди, у которого был обнаружен редкий доминантный аллель *GmFT5a-H4*. Первая комбинация *E1–E4* выявлена у двух ультраскороспелых и трех близких к ним по сроку вегетации скороспелых сортов. Она характеризуется присутствием рецессивных аллелей по каждому из четырех генов. Комбинация 2 с одним доминантным геном *E4* присутствует у сортов Чера-1 и Малага (срок вегетации 105 и 112 дней соответственно). Комбинация 3 с одним доминантным геном *E3-Ha* выявлена у сорта Белгородская 48 (108 дней). Комбинация 4, включающая доминантные гены *E1* и *E4*, характерна для сорта Персона со сроком вегетации 106 дней. Среднескороспелый сорт Кассиди содержит комбинацию 5 с двумя доминантными генами *E3-Ha* и *E4* и имеет самый продолжительный срок вегетации в данной серии сортов. У этого же сорта присутствует аллель *GmFT5a-H4*, который, согласно (Jiang et al., 2019), также может оказывать влияние на продолжительность вегетационного периода. Таким образом, нами показана преимущественная ассоциация генотипа, содержащего

рецессивные аллели генов *E1–E4*, с группой ультраскороспелых и очень скороспелых сортов, тогда как сорта с более поздним сроком вегетации характеризуются присутствием одного или двух доминантных аллелей по генам *E1*, *E3* или *E4* (см. табл. 1).

Структура установленных нами генотипов с преобладанием рецессивных аллелей по основным генам фотопериода характерна для большинства сортов из северных районов Китая (Jiang et al., 2014) и Японии (Xu et al., 2013). Так, в первой работе было установлено, что чувствительность к фотопериоду и срок вегетации снижаются обратно пропорционально количеству рецессивных аллелей *E1–E4*. Наименьшая чувствительность характерна для генотипа *e1/e2/e3/e4* у сортов, распространенных в северных широтах Китая. По международной классификации эти сорта относятся к группе MG000 очень ранних сортов, а согласно нашей отечественной классификации могут быть отнесены к группам ультраскороспелых и очень скороспелых сортов. Группы MG00 и MG0 ранних и среднеранних сортов имеют генотипы с одним или двумя доминантными генами, преимущественно *E3* и *E4*, на фоне рецессивных *e1* и *e2*. У этих групп срок вегетации составляет 91–110 и 111–120 дней соответственно, что соотносится с нашими скороспелыми и среднескороспелыми сортами. И наконец, группы сортов MGI–MGIV, как правило, имеют генотипы с тремя или четырьмя доминантными аллелями: *E1/e2/E3/E4*, *e1/E2/E3/E4* или *E1/E2/E3/E4*. Указанные генотипы распространены в средних и южных районах Китая, климатические условия которых способствуют более позднему сроку созревания (Jiang et al., 2014). Таким образом, проанализированные нами сорта относятся к группам MG000–MG0 по сроку вегетации и имеют сходный генотипический состав по генам фотопериода *E1–E4* с аналогичными сортами северных районов Юго-Восточной Азии, наиболее близких к территории Дальнего Востока – первичного ареала возделывания сои в нашей стране. Именно из этого региона селекционный материал сои распространился в Юго-Западную часть России, Сибирь и другие регионы.

Аллели *E1–E4* оказывают разное воздействие на чувствительность к фотопериоду и срок созревания. Предыдущие исследования показывают, что гены *E1* и *E2* оказывают большое влияние на фазу развития, непосредственно предшествующую стадии цветения, тогда как локусы *E3* и *E4* влияют не только на эту, но и на последующие фазы цветения и созревания (Xu et al., 2013; Jiang et al., 2014). Поэтому последние локусы очень важны в селекции по признаку продуктивности. Из них наибольший эффект на чувствительность к свету оказывает ген *E4*, рецессивная форма которого распространена в северных широтах, что также подтверждается нашими данными. Если же сравнивать два первых гена, то предполагается, что ген *E1* играет ключевую роль в детерминации цветения под действием фотопериода (Xia et al., 2012). Об этом свидетельствует и сравнение генотипов *E1/e2/E3/E4* и *e1/E2/E3/E4*, показавшее более значительное снижение реакции на фотопериод в случае генотипа с *e1* (Jiang et al., 2014). Почти все сорта в изученной нами выборке, за исключением сорта Персона, содержат нефункциональные аллели *e1-as* и *e1-nl*, которые, по-видимому, вносят основной вклад в сокращение



срока вегетации. Что касается рецессивного аллеля *e2*, то он присутствует во всех изученных нами сортах. Это согласуется с анализом сортов из Амурской области, который показал наличие доминантного аллеля *E2* только у одного сорта из восемнадцати (Jia et al., 2014).

Гены семейства *GmFT* являются активаторами цветения, и их транскрипция отрицательно коррелирует с экспрессией репрессора цветения *E1* (Xia et al., 2012). Наиболее сильные гены этого семейства – *GmFT2a* и *GmFT5a* (Takeshima et al., 2016). Несмотря на то что ген *GmFT2a* демонстрировал различные транскрипционные профили в разных условиях внешней среды и в отдельных сортах, различающихся по чувствительности к фотопериоду, его полиморфизм, как правило, не был ассоциирован со сроком вегетации (Jiang et al., 2013). В составе некоторых сортов была идентифицирована инсерция мобильного элемента *SORE-1* в первом интроне *GmFT2a*, которая подавляла транскрипцию данного гена и приводила к задержке цветения (Zhao et al., 2016). С использованием маркера на один из флангов инсерции (см. табл. 2) нами была установлена интактная форма гена *GmFT2a* у всех проанализированных сортов.

У ряда зарубежных сортов групп спелости MG000 и MG00 (к этим группам относятся и проанализированные нами сорта) была обнаружена делеция 49 п. н. в составе 3'-UTR гена *GmFT5a*, которая обуславливала уменьшение срока цветения относительно сортов с рецессивной формой гена (Takeshima et al., 2016; Jiang et al., 2019). Мы сконструировали праймеры, ограничивающие сайт делеции, и с помощью ПЦР и последующего секвенирования ПЦР-продукта показали наличие этой делеции у сорта Кассиди (см. рис. 8). Помимо указанной доминантной формы *GmFT5a*, потенциально сокращающей срок цветения, сорт Кассиди содержит два доминантных гена *E3* и *E4*, которые могут оказывать противоположное влияние на продолжительность вегетации. Однако механизм взаимодействия этих генов и их совместного влияния на срок вегетации еще предстоит выяснить.

## Заключение

В настоящей работе впервые на материале сортов сои, допущенных к использованию в РФ, из регионов Западной Сибири и Белгородской области проведена апробация молекулярных маркеров к различным аллелям генов *E1–E4*, *GmFT*, отвечающим за реакцию на фотопериод и срок вегетации. Для сортов указанных регионов характерен укороченный срок вегетации и низкая чувствительность к фотопериоду. Эти особенности коррелируют с количеством рецессивных аллелей генов *E1–E4*: сорта с самым коротким сроком вегетации (ультраскороспелые) преимущественно имеют генотип *e1-nl(e1-as)/e2-ns/e3-tr(e3-fs)/e4*, тогда как сорта с более поздним сроком (скороспелые и среднескороспелые) характеризуются генотипами с наличием одного-двух доминантных аллелей, преимущественно по генам *E3* и *E4*. Этот результат генотипирования 10 сортов сои согласуется с данными зарубежных авторов, полученными на обширных выборках сортов из географических районов Японии и Северного Китая, приближенных по климатическим условиям Дальнему Востоку – району первичного возделывания сои в нашей

стране. Таким образом, апробированный набор молекулярных маркеров может быть использован для селекции отечественных сортов сои по признакам чувствительности к фотопериоду и сроку вегетации, от которых во многом зависит продуктивность этой культуры, особенно в условиях нетипичного для ее возделывания умеренного климата.

## Список литературы / References

- Агаркова С.Н., Новикова Н.Е., Беляева Р.В., Головина Е.В., Беляева Ж.А., Цуканова З.Р., Митькина Н.И. Особенности формирования продуктивности и адаптивных реакций у сортов зернобобовых культур с рецессивными аллелями генов. *Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции*. 2016;177(2):22-39. DOI 10.30901/2227-8834-2016-2-22-39.
- [Agarkova S.N., Novikova N.E., Belyaeva R.V., Golovina E.V., Belyaeva Zh.A., Tsukanova Z.R., Mitkina N.I. Features of the formation of productivity and adaptive reactions in leguminous crop varieties with recessive alleles of genes. *Trudy po Prikladnoy Botanike, Genetike i Selektzii = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2016;177(2):22-39. DOI 10.30901/2227-8834-2016-2-22-39. (in Russian)]
- Вавилов Н.И. Центры происхождения культурных растений. *Труды по прикл. ботанике, генетике и селекции*. 1926;16(2):248.
- [Vavilov N.I. Centers of origin of cultivated plants. *Trudy po Prikladnoy Botanike, Genetike i Selektzii = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 1926;16(2):248. (in Russian)]
- Жуковский П.М. Культурные растения и их сородичи. Л.: Колос, 1964.
- [Zhukovsky P.M. Cultivated Plants and Their Relatives. Leningrad: Kolos Publ., 1964. (in Russian)]
- Корсаков Н.И. Каталог генетической коллекции сои. Л., 1973.
- [Korsakov N.I. Soybean Genetic Collection Catalog. Leningrad, 1973. (in Russian)]
- Gorissen S.H.M., Crombag J.J.R., Senden J.M.G., Waterval W.A.H., Bieraui J., Verdijk L.B., Loon L.J.C. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. *Amino Acids*. 2018;50(12):1685-1695. DOI 10.1007/s00726-018-2640-5.
- Guo G., Xu K., Zhang X., Zhu J., Lu M., Chen F., Liu L., Xi Z.Y., Bachmair A., Chen Q., Fu Y.F. Extensive analysis of *GmFTL* and *GmCOL* expression in northern soybean cultivars in field conditions. *PLoS One*. 2015;10(9):e0136601. DOI 10.1371/journal.pone.0136601.
- Hoffman J.R., Falvo M.J. Protein – which is best? *J. Sports Sci. Med*. 2004;3(3):118-130.
- Jia H., Jiang B., Wu C., Lu W., Hou W., Sun S., Yan H., Han T. Maturity group classification and maturity locus genotyping of early-maturing soybean varieties from high-latitude cold regions. *PLoS One*. 2014;9(4):e94139. DOI 10.1371/journal.pone.0094139.
- 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;9(8):e106042. DOI 10.1371/journal.pone.0106042.
- Jiang B., Yue Y., Gao Y., Ma L., Sun S., Wu C., Hou W., Lam H.M., Han T. *GmFT2a* polymorphism and maturity diversity in soybeans. *PLoS One*. 2013;8(10):e77474. DOI 10.1371/journal.pone.0077474.
- Jiang B., Zhang S., Song W., Khan M., Sun S., Zhang C., Wu T., Wu C., Han T. Natural variations of *FT* family genes in soybean varieties covering a wide range of maturity groups. *BMC Genom*. 2019; 20(1):230. DOI 10.1186/s12864-019-5577-5.
- Kiseleva A.A., Shcherban A.B., Leonova I.N., Frenkel Z., Salina E.A. Identification of new heading date determinants in wheat 5B chromosome. *BMC Plant Biol*. 2016;16(8):35-46. DOI 10.1186/s12870-015-0688-x.



- Kong F., Liu B., Xia Z., Sato S., Kim B.M., Watanabe S., Yamada T., Tabata S., Kanazawa A., Harada K., Abe J. Two coordinately regulated homologs of *FLOWERING LOCUS T* are involved in the control of photoperiodic flowering in soybean. *Plant Physiol.* 2010; 154(3):1220-1231. DOI 10.1104/pp.110.160796.
- Liu B., Kanazawa A., Matsumura H., Takahashi R., Harada K., Abe J. Genetic redundancy in soybean photoreponses associated with duplication of phytochrome A gene. *Genetics.* 2008;180(2):995-1007. DOI 10.1534/genetics.108.092742.
- Saindon G., Voldeng H.D., Beversdorf W.D., Buzzell R.I. Genetic control of long daylength response in soybean. *Crop Sci.* 1989;29(6): 1436-1439. DOI 10.2135/cropsci1989.0011183X002900060021x.
- Samanfar B., Molnar S.J., Charette M., Schoenrock A., Dehne F., Golshani A., Belzile F., Cober E.R. Mapping and identification of a potential candidate gene for a novel maturity locus, *E10*, in soybean. *Theor. Appl. Genet.* 2017;130(2):377-390. DOI 10.1007/s00122-016-2819-7.
- Takeshima R., Hayashi T., Zhu J., Zhao C., Xu M., Yamaguchi N., Sayama T., Ishimoto M., Kong L., Shi X., Liu B., Tian Z., Yamada T., Kong F., Abe J. A soybean quantitative trait locus that promotes flowering under long days is identified as *FT5a*, a *FLOWERING LOCUS T* ortholog. *J. Exp. Bot.* 2016;67(17):5247-5258. DOI 10.1093/jxb/erw283.
- 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. *Ann. Bot.* 2014;113(3):429-441. DOI 10.1093/aob/mct269.
- Wang F., Nan H., Chen L., Fang C., Zhang H., Su T., Li S., Cheng Q., Dong L., Liu B., Kong F., Lu S. A new dominant locus, *E11*, controls early flowering time and maturity in soybean. *Mol. Breed.* 2019; 39(5):70. DOI 10.1007/s11032-019-0978.
- Watanabe S., Harada K., Abe J. Genetic and molecular bases of photoperiod responses of flowering in soybean. *Breed Sci.* 2012;61(5): 531-543. DOI 10.1270/jsbbs.61.531.
- Watanabe S., Hideshima R., Xia Z., Tsubokura Y., Sato S., Nakamoto Y., Yamana N., Takahashi R., Ishimoto M., Anai T., Tabata S., Harada K. Map-based cloning of the gene associated with the soybean maturity locus *E3*. *Genetics.* 2009;182(4):1251-1262. DOI 10.1534/genetics.108.098772.
- Watanabe S., Xia Z., Hideshima R., Tsubokura Y., Sato S., Yamana N., Takahashi R., Anai T., Tabata S., Kitamura K., Harada K. A map-based cloning strategy employing a residual heterozygous line reveals that the *GIGANTEA* gene is involved in soybean maturity and flowering. *Genetics.* 2011;188(2):395-407. DOI 10.1534/genetics.110.125062.
- Wu F., Sedivy E.J., Price W.B., Haider W., Hanzawa Y. Evolutionary trajectories of duplicated *FT* homologues and their roles in soybean domestication. *Plant J.* 2017;90(5):941-953. DOI 10.1111/tpj.13521.
- Xia Z., Watanabe S., Yamada T., Tsubokura Y., Nakashima H., Zhai H., Anai T., Sato S., Yamazaki T., Lü S., Wu H., Tabata S., Harada K. Positional cloning and characterization reveal the molecular basis for soybean maturity locus *E1* that regulates photoperiodic flowering. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012;109(32):E2155-E2164. DOI 10.1073/pnas.1117982109.
- Xu M., Xu Z., Liu B., Kong F., Tsubokura Y., Watanabe S., Xia Z., Harada K., Kanazawa A., Yamada T., Abe J. Genetic variation in four maturity genes affects photoperiod insensitivity and PHYA-regulated post-flowering responses of soybean. *BMC Plant Biol.* 2013; 13:91. DOI 10.1186/1471-2229-13-91.
- Xu M., Yamagishi N., Zhao C., Takeshima R., Kasai M., Watanabe S., Kanazawa A., Yoshikawa N., Liu B., Yamada T., Abe J. The soybean-specific maturity gene *E1* family of floral repressors controls night-break responses through down-regulation of *FLOWERING LOCUS T* orthologs. *Plant Physiol.* 2015;168(4):1735-1746. DOI 10.1104/pp.15.00763.
- Zhai H., Lü S., Liang S., Wu H., Zhang X., Liu B., Kong F., Yuan X., Li J., Xia Z. *GmFT4*, a homolog of *FLOWERING LOCUS T*, is positively regulated by *E1* and functions as a flowering repressor in soybean. *PLoS One.* 2014;9(2):e89030. DOI 10.1371/journal.pone.0089030.
- Zhao C., Takeshima R., Zhu J., Xu M., Sato M., Watanabe S., Kanazawa A., Liu B., Kong F., Yamada T., Abe J. A recessive allele for delayed flowering at the soybean maturity locus *E9* is a leaky allele of *FT2a*, a *FLOWERING LOCUS T* ortholog. *BMC Plant Biol.* 2016; 16(1):1-15. DOI 10.1186/s12870-016-0704-9.
- Zhu J., Takeshima R., Harigai K., Xu M., Kong F., Liu B., Kanazawa A., Yamada T., Abe J. Loss of function of the *E1-Like-b* gene associates with early flowering under long-day conditions in soybean. *Front. Plant Sci.* 2019;9:1867. DOI 10.3389/fpls.2018.01867.

#### ORCID ID

A.B. Shcherban orcid.org/0000-0003-1000-8228  
E.A. Salina orcid.org/0000-0001-8590-847X

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках проекта РНФ 21-76-30003. Размножение растений проводилось в ЦКП «Лаборатория искусственного выращивания растений» ИЦиГ СО РАН в рамках бюджетного проекта 0259-2021-0012.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 07.05.2021. После доработки 23.07.2021. Принята к публикации 27.07.2021.