

6. Щукис, Е.Р. Кормовые культуры на Алтае: монография / Е. Р. Щукис. – Барнаул: ГНУ Алтайский НИИСХ, 2013. – 182 с. – Текст: непосредственный.

7. Цугкиев, Б. Г. Фотосинтетический потенциал образцов амаранта, культивируемых в РСО-Алания / Б. Г. Цугкиев, Л. В. Чкареули. – Текст: непосредственный // Известия Горского государственного аграрного университета. – 2019. – Т. 56, № 4. – С. 180-184. – EDN NMQQDT.

References

1. Ecological significance of winter camelina in biological agriculture / S. A. Bekuzarova, S. S. Basiev, A. Kh. Kozyrev [et al.] // Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2018. – Vol. 10, No. 4. – P. 893-895.

2. Chkareuli, L. V. Fenologicheskie i fotosinteticheskie pokazateli obraztsov amaranta k-61 i k-62, introdutsirovannykh v RSO-Alaniya / L. V. Chkareuli, L. V. Gagieva // Innovatsionnye tekhnologii, ekonomika i menedzhment v promyshlennosti. – Volgograd: OOO "KONVERT", 2021. – S. 22-25.

3. Ovcharenko, N. S. Mikromitsety aromatichekikh i lekarstvennykh rasteniy Kryma / N. S. Ovcharenko, A. Kh. Kozyrev. – Vladikavkaz: Gorskiy GAU, 2018. – 256 s.

4. Klimova, E. V. Puti stabilizatsii kormoproizvodstva Zabaykalya / E. V. Klimova, O. T. Andreeva, G. P. Temnikova // Problemy i perspektivy sovershenstvovaniya zonalnykh sistem zemledeliya v sovremennykh usloviyakh. – Chita, 2009. – S. 36-39.

5. Andreeva, O. T. Sovremennoe sostoyanie i perspektivnye napravleniya razvitiya kormoproizvodstva Zabaykalskogo kraya / O. T. Andreeva // Sovremennoe sostoyanie i strategiya razvitiya kormoproizvodstva v XXI veke. – Novosibirsk, 2012. – S. 41-48.

6. Shchukis, E.R. Kormovye kultury na Altae: monografiya. – Barnaul: GNU Altayskiy NIISKh, 2013. – 182 s.

7. Tsugkiev, B. G. Fotosinteticheskiy potentsial obraztsov amaranta, kultiviruemykh v RSO-Alaniya / B. G. Tsugkiev, L. V. Chkareuli // Izvestiya Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – 2019. – Т. 56, No. 4. – С. 180-184.



УДК 633.34

DOI: 10.53083/1996-4277-2026-259-5-23-28

А.А. Иваний, А.А. Пензин,
П.Д. Тимкин, А.В. Чепелева
A.A. Ivaniy, A.A. Penzin,
P.D. Timkin, A.V. Chepeleva

ВЛИЯНИЕ ЧАСТИЧНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЕМЯДОЛЕЙ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ СЕМЯН СОИ И ПРИГОДНОСТЬ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ ПЦР-АНАЛИЗА

EFFECT OF PARTIAL COTYLEDON DAMAGE ON SOYBEAN SEED VIABILITY AND SAMPLE SUITABILITY PCR ASSAY

Ключевые слова: соя, *Glycine max*, неразрушающий отбор проб, биопсия семени, *seed chipping*, ПЦР-генотипирование, выделение ДНК, маркер-ассоциированная селекция (MAS), семядоля, всхожесть семян.

Маркер-ассоциированная селекция является ключевым инструментом современной селекции, однако ее применение на сое ограничено деструктивным характером стандартного ПЦР-анализа, приводящим к потере ценных генотипов. Цель работы – оценка возможности неразрушающего отбора ткани семядолей для одновременного ПЦР-генотипирования и сохранения всхожести семян. Объектом

исследования служили семена сои сорта Сентябрька ($n = 200$). В опытной группе проводили клиновидный срез латеральной части семядоли массой 8-12 мг с последующим выделением ДНК и оценкой всхожести в лабораторных условиях. Установлено, что частичное удаление ткани не оказывает критического влияния на жизнеспособность семян. Лабораторная всхожесть в опытной группе составила 94% (контроль – 96%), энергия прорастания – 89% (контроль – 91%). Длина корешка и гипокотыля не имела статистически значимых отличий от контроля. Концентрация ДНК в 50 опытных образцах варьировала от 336 до 625 нг/мкл при среднем значении 473,6 нг/мкл. Чистота ДНК (соотношение A260/280)

находилась в пределах 1,8-1,92, что соответствует требованиям для ПЦР в реальном времени и SNP-генотипирования. Предложенный подход позволяет проводить генетический скрининг на стадии семени без потери материала, исключать образцы без целевых аллелей и концентрировать ресурсы на перспективных линиях. Метод рекомендован для работы с ограниченными коллекциями и уникальным генетическим материалом сои, практически полностью обеспечивая совмещение молекулярно-генетического анализа с сохранением ценных генотипов для дальнейшего использования в селекционном процессе и значительного ускорения создания новых сортов.

Keywords: *soybean (Glycine max), non-destructive sampling, seed biopsy, seed chipping, PCR genotyping; DNA extraction; marker-assisted selection (MAS), cotyledon, seed germination.*

Marker-assisted selection is a key tool in modern plant breeding but its application towards soybean is limited by the destructive nature of standard PCR analysis which leads to the loss of valuable genotypes. The research goal was to evaluate the feasibility of non-destructive cotyledon tissue sampling for simultaneous PCR genotyping and preservation of seed viability. The

research targets were soybean seeds of the variety Sentyabrinka with a total sample size of 200. In the experimental group, a wedge-shaped section of the lateral part of the cotyledon weighing 8 to 12 milligrams was made followed by DNA extraction and viability assessment under laboratory conditions. It was found that partial tissue removal did not critically affect seed viability. Laboratory germination rate in the experimental group was 94 percent compared to 96 percent in the control group, while germination energy was 89 percent compared to 91 percent in the control. Root and hypocotyl lengths showed no statistically significant differences from the control. DNA concentration in 50 experimental samples ranged from 336 to 625 nanograms per microliter, with an average value of 473.6 nanograms per microliter. DNA purity measured by the A260 slash 280 ratio was within the range of 1.8 to 1.92 which met the requirements for real-time PCR and SNP genotyping. The proposed approach allows genetic screening at the seed stage without material loss, enables the exclusion of samples lacking target alleles, and concentrates resources on promising lines. The method is recommended for work with limited collections and unique soybean genetic material, as it virtually fully combines molecular genetic analysis with the preservation of valuable genotypes for further use in the breeding process and significantly accelerates the development of new varieties.

Иваний Алена Андреевна, магистрант, мл. науч. сотр., ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», г. Благовещенск, Российская Федерация, e-mail: iaa@vniisoi.ru.

Пензин Андрей Андреевич, к.с.-х.н., вед. науч. сотр., ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», г. Благовещенск, Российская Федерация, e-mail: paa@vniisoi.ru.

Тимкин Павел Дмитриевич, аспирант, мл. науч. сотр., ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», г. Благовещенск, Российская Федерация, e-mail: tpd@vniisoi.ru.

Чепелева Анфиса Владимировна, мл. науч. сотр., ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт сои», г. Благовещенск, Российская Федерация, e-mail: chav@vniisoi.ru.

Ivaniy Alena Andreevna, master's degree student, Junior Researcher, Federal Research Center "All-Russian Research Institute of Soybean", Blagoveshchensk, Russian Federation, e-mail: iaa@vniisoi.ru.

Penzin Andrey Andreevich, Cand. Agr. Sci., Leading Researcher, Federal Research Center "All-Russian Research Institute of Soybean", Blagoveshchensk, Russian Federation, e-mail: paa@vniisoi.ru.

Timkin Pavel Dmitrievich, post-graduate student, Junior Researcher, Federal Research Center "All-Russian Research Institute of Soybean", Blagoveshchensk, Russian Federation, e-mail: tpd@vniisoi.ru.

Chepeleva Anfisa Vladimirovna, Junior Researcher, Federal Research Center "All-Russian Research Institute of Soybean", Blagoveshchensk, Russian Federation, e-mail: chav@vniisoi.ru.

Введение

Селекция сельскохозяйственных культур активно переходит на молекулярно-генетические методы. Ключевым подходом стала маркер-ассоциированная селекция (MAS), позволяющая отбирать ценные генотипы на основе анализа ДНК еще до проявления признаков [1]. Молекулярные технологии, включая MAS, сокращают селекционный цикл и позволяют комплексно улучшать хозяйственные характеристики [2]. Интеграция MAS с полногеномным анализом

повышает точность прогнозирования сложных признаков [3]. Ранняя ДНК-диагностика ускоряет выведение сортов и повышает экономическую эффективность селекции [4].

Маркер-ассоциированная селекция позволяет идентифицировать аллели, отвечающие за устойчивость к стрессам и качество урожая [5]. Например, с помощью MAS созданы генотипы сои с улучшенной питательной ценностью, сохраняя уровень других хозяйственно полезных свойств [6]. Базовый элемент MAS – ПЦР-гено-

типирование. Однако при работе с соей (*Glycine max*) возникает проблема: стандартный отбор проб требует разрушения семени, что делает его непригодным для высева. Это противоречит задаче сохранения ценных генотипов [7]. Технология, призванная повышать эффективность, работает, скорее, как механизм отбраковки, а не сохранения генетических ресурсов.

Из данного противоречия вытекает необходимость поиска решения, позволяющего совместить генетический анализ с сохранением материала. В условиях работы с ограниченными коллекциями, где каждый образец уникален, применение деструктивных методов неприемлемо. Разработка неразрушающего способа отбора тканей для выделения ДНК является необходимым условием для полноценной интеграции MAS в практическую деятельность.

Цель работы – оценить принципиальную возможность использования неразрушающего метода отбора проб (на примере ткани семядолей сои), позволяющего одновременно проводить ПЦР-генотипирование и сохранять всхожесть семян для их дальнейшего использования в селекционном процессе.

Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1) провести частичный отбор ткани семядолей сои (*seed chipping*) и оценить влияние данного вмешательства на лабораторную всхожесть, энергию прорастания и морфометрические показатели проростков;

2) Выделить тотальную геномную ДНК из фрагментов семядолей массой 8-12 мг и оценить ее концентрацию и чистоту (соотношение A260/280) методом спектрофотометрии;

3) сопоставить полученные показатели с контрольными образцами для определения степени воздействия предложенного метода на жизнеспособность семян и качество генетического материала;

4) на основе экспериментальных данных обосновать применимость неразрушающего метода отбора проб для интеграции в селекционный процесс, в том числе при работе с ограниченными коллекциями сои.

Объекты и методы

Объектом исследования служили семена культурной сои (*Glycine max* (L.) Merr.) сорта Сентябрька, первого класса посевного стандарта. Общий объем выборки составил 200 ин-

тактных семян, которые методом случайной повторной выборки были разделены на две равные группы (по 100 семян в каждой): группа К (контрольная) – интактные семена, группа О (опытная) – семена, подвергнутые частичной резекции семядоли.

Методика частичного отбора ткани («*seed chipping*») выполнялась в асептических условиях. Стерильным скальпелем делали клиновидный срез в латеральной части семядоли, максимально удаленной от зародышевой оси, чтобы не задеть меристематические ткани. Средняя масса образца составляла 8-12 мг (3-5% от массы семядоли). После отбора визуально контролировали целостность зародыша.

Семена проращивали при $25 \pm 1^\circ\text{C}$ на фильтровальной бумаге в чашках Петри (4 повторности по 50 семян в каждой, включающих равное количество семян из контрольной и опытной групп). Учет проводили по модифицированному протоколу: энергию прорастания (3-и и 5-е сут.) и лабораторную всхожесть (5-е сут.). Фрагменты ткани немедленно использовали для выделения ДНК (готовым набором ДНК-Экстран-3).

Результаты и их обсуждения

В ходе исследования была экспериментально проверена гипотеза о возможности отбора ткани семядоли сои для ПЦР-генотипирования без потери жизнеспособности семени. В качестве модельного объекта использовали семена сои сорта Сентябрька. Оценка проводилась по двум ключевым направлениям: анализ ростовых характеристик поврежденных семян и оценка пригодности полученных ДНК для молекулярно-генетического анализа.

Результаты лабораторного эксперимента показали, что частичное удаление ткани семядоли не оказывает критического влияния на способность семени к прорастанию и дальнейшему развитию (табл. 1).

Результаты лабораторного анализа показали, что семена с поврежденной семядолью сохраняют высокую жизнеспособность (табл. 1). Энергия прорастания в опытной группе составила 89% (контроль – 91%), а к 5-м сут. проросло 96% семян против 98% в контроле. Сохранение высокой всхожести при локальном повреждении семядолей согласуется с данными [8], где наблюдалось незначительное снижение этого показателя при использовании микроигольных пластырей. Проростки развивались нормально:

длина корешка достигала 8,1 см, гипокотилья – 4,0 см, что сопоставимо с контролем (8,4 и 4,2 см). Статистически значимых различий между группами не выявлено.

Визуальный анализ проростков (рис.) подтверждает отсутствие существенных отклонений в развитии опытных растений. На 3-и сут. (рис. А, В) проростки с поврежденной семядолей незначительно уступают контрольным по размерам, но имеют сформированные корешок и гипокотиль. К 5-м сут. (рис. Б, Г) различия минимальны: семядольные листья раскрываются и зеленеют, что свидетельствует о начале фото-

синтеза и успешном переходе к автотрофному питанию. Это указывает на достаточность запасных питательных веществ даже в поврежденной семядоле для завершения прорастания.

Оценку количества выделенной ДНК проводили на спектрофотометре EZ-Drop. Результаты измерений показали, что даже при минимальном объеме растительного материала концентрация ДНК в опытных образцах сохраняется на высоком уровне, значительно превышая минимально необходимый порог в 50-100 нг/мкл для стандартной ПЦР (таб. 2).

Таблица 1

Влияние повреждения семядоли на показатели жизнеспособности и роста проростков сои (*Glycine max*, сорт Сентябрьринка)

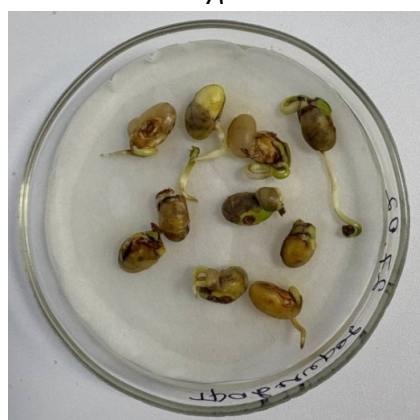
Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Энергия прорастания, % (3-и сут.)	91	89
Энергия прорастания, % (5-е сут.)	98	96
Лабораторная всхожесть, % (5-е сут.)	96	94
Длина корешка, см (5-е сут.)	8,4±1,5	8,1±1,4
Длина гипокотилья, см (5-е сут.)	4,2±0,8	4,0±0,8



А



Б



В



Г

Рис. Влияние частичного повреждения семядоли на рост и развития проростков сои (сорт Сентябрьринка):

А, Б – контрольная группа на 3-и и 5-е сут.; В, Г – опытная группа на 3-и и 5-е сут.

Концентрация ДНК, выделенной из семян сои (сорт Сентябрьска), нг/мкл

Номер образца	Концентрация ДНК, нг/мкл	Номер образца	Концентрация ДНК, нг/мкл
1	425	26	430
2	386	27	395
3	520	28	515
4	336	29	521
5	610	30	623
6	442	31	369
7	396	32	422
8	563	33	510
9	602	34	427
10	360	35	559
11	402	36	450
12	556	37	383
13	365	38	391
14	396	39	563
15	462	40	625
16	552	41	607
17	603	42	533
18	420	43	454
19	386	44	496
20	425	45	386
21	553	46	393
22	589	47	459
23	625	48	469
24	338	49	621
25	427	50	596

Измерения на спектрофотометре EZ-Drop подтвердили стабильность выхода ДНК при использовании неразрушающего метода. Концентрации ДНК в 50 образцах варьировали от 336 до 625 нг/мкл (среднее – 473,6 нг/мкл). Высокий выход достигнут при заборе ткани менее 20 мг, что сопоставимо с контролем и достаточно для высокопроизводительного генотипирования. Чистота ДНК соответствовала требованиям: соотношение A260/280 во всех образцах составляло 1,8-1,92, что указывает на отсутствие значимой контаминации белками и полисахаридами, способной осложнить ПЦР-анализ сои.

Таким образом, даже минимальный фрагмент семядоли обеспечивает количество ДНК, достаточное для амплификации и полногеномного секвенирования. В сочетании с сохранением жизнеспособности семян разработанный подход является полноценной альтернативой деструктивным методам генотипирования.

Заключение

Предложенный подход имеет значение для развития маркер-ассоциированной селекции

(MAS) сои, поскольку разрешает ее ключевое противоречие: стандартный ПЦР-анализ требует разрушения семени, что уничтожает уникальный генотип. Частичный дефект семядоли (аналог биопсии) обеспечивает всхожесть 94% без отклонений от контроля, а качество ДНК соответствует стандартам ПЦР. Метод позволяет одновременно получать генетический материал и сохранять растение. После изъятия ткани (8-12 мг) семя сохраняет жизнеспособность для высева, полученной ДНК достаточно для qPCR и SNP-анализа. Частичное повреждение семени выступает связующим звеном между молекулярной генетикой и классической селекцией, позволяя проводить скрининг на стадии семени и концентрировать усилия на перспективных линиях, что сокращает затраты в соответствии с задачами ускоренной селекции.

1. Частичная резекция семядоли (8-12 мг) обеспечивает сохранение всхожести семян сои на уровне 94%.

2. Качество выделенной ДНК соответствует стандартам для ПЦР, qPCR и SNP-генотипирования.

3. Метод разрешает противоречие MAS между необходимостью анализа и сохранением генотипа.

4. Подход позволяет проводить скрининг на стадии семени, исключая образцы без целевых аллелей и сокращая затраты.

5. Метод применим для работы с ограниченными коллекциями и согласуется с данными исследований на других культурах.

Библиографический список References

1. Aziz, M., Masmoudi, K. (2024). Molecular breakthroughs in modern plant breeding techniques. *Horticultural Plant Journal*. 11. 15-41. DOI: 10.1016/j.hpj.2024.01.004.

2. Fetisov, I., Eizikovich, O., Charles Diouf, D., et al. (2025). Advancements in Molecular Breeding Techniques for Soybeans. *Plants (Basel, Switzerland)*, 15 (1), 5. <https://doi.org/10.3390/plants15010005>.

3. Dong, Q., et al. (2025). Genome-Wide Association Study and Genomic Prediction of Essential Agronomic Traits in Diversity Panel of Soybean Varieties. *Agronomy*. 15. 1181. DOI: 10.3390/agronomy15051181.

4. Gao H.T., Li H.Y. (2025). Marker-assisted selection (MAS) in soybean breeding. *Molecular Plant Breeding*, 16(1): 35-43. DOI: 10.5376/mpb.2025.16.0004.

5. Kamaluddin et al. (2022). Marker-Assisted Selection for Value Addition in Crop Plants / Kamaluddin, U. Kiran, M.Z. Abdin (eds.) In: *Technologies in Plant Biotechnology and Breeding of Field Crops*. Singapore: Springer. DOI: 10.1007/978-981-16-5767-2_2.

6. Jadhav, P., et al. (2025). Genomic introgression and expression profiling of the KTI null allele in soybean through elite-by-elite backcrossing. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 224, 109912. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2025.109912>.

7. Xia Z., et al. (2021). A Rapid, Non-destructive and Continuous Sampling Technique and DNA Extraction for Soybean Seed. *Chinese Bulletin of Botany*, 56(1): 56-61. DOI: 10.11983/CBB20095.

8. Li, M., et al. (2025). Non-destructive seed genotyping via microneedle-based DNA extraction. *Plant Biotechnology Journal*, 23(6), 2317–2329. <https://doi.org/10.1111/pbi.70055>.



УДК 631.524.5

DOI: 10.53083/1996-4277-2026-259-5-28-34

Л.Б. Мерк, С.В. Жаркова
L.B. Merk, S.V. Zharkova

ИЗУЧЕНИЕ И СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА ВОСТОКЕ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

STUDY AND CONSERVATION OF SUNFLOWER GENETIC RESOURCES IN THE EAST OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Ключевые слова: подсолнечник, генофонд, инбредная линия, селекция, Восточный Казахстан, группы спелости, масличность, крупноплодность, биоразнообразие.

Изложены итоги комплексного изучения и систематизации генофонда подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) в условиях Восточного Казахстана за 2021-2023 гг. Проведенный анализ обусловлен необходимостью обновления отечественного селекционного фонда в условиях климатической нестабильности для обеспечения продовольственной безопасности страны. Исследования проводились на базе ТОО «Восточно-Казахстанская сельскохозяйственная опытная станция» при экстремальном гидротерми-

ческом режиме региона 2021-2023 гг., которые послужили фоном для оценки адаптивного потенциала коллекционных образцов. Материалом определены 292 инбредные константные линии. В процессе исследования проведена оценка коллекции по основным хозяйственно-ценным признакам. Выявлено, что выше 40% генофонда представлено скороспелыми генотипами, способными избегать пика атмосферной засухи. Подтвержден значительный потенциал материала: отобрано 186 высокомасличных форм с содержанием масла в семенах более 50% и 61 крупноплодная линия с массой 1000 семян более 70 г. Особый акцент сделан на фитопатологический мониторинг в полевых условиях, в ходе которого идентифицированы образцы комплексной устойчивости в