АГРОНОМИЯ

Обзорная статья/Review article
УДК 633.34, 631.523
DOI: 10.36718/1819-4036-2026-8-3-24

Павел Дмитриевич Тимкин[1]✉, **Полина Михайловна Линская**[2], **Андрей Андреевич Пензин**[3]
[1,2,3]ФНЦ Всероссийский НИИ сои, Благовещенск, Россия
[1]tpd@vniisoi.ru
[2]elduspaladium@gmail.com
[3]paa@vniisoi.ru

ПРЕОДОЛЕНИЕ БАРЬЕРОВ ТРАДИЦИОННОЙ СЕЛЕКЦИИ: РЕДАКТИРОВАНИЕ ГЕНОМА КАК ТЕХНОЛОГИЯ ДЛЯ УЛУЧШЕНИЯ СОИ

Цель исследования – провести комплексный анализ современных научных публикаций, посвященных применению технологий редактирования генома, в первую очередь системы CRISPR-Cas, для целенаправленного улучшения агрономически значимых признаков сои (Glycine max L.) и преодоления ключевых ограничений традиционной селекции. Обзор 78 публикаций из международных научных баз (Web of Science, Scopus, PubMed, Google Scholar и РИНЦ) представляет комплексный анализ возможностей технологий редактирования генома, в первую очередь системы CRISPR-Cas, для преодоления ограничений традиционной селекции. Основное внимание уделено систематизации последних достижений в направленной модификации ключевых агрономических признаков. Рассмотрены стратегии улучшения качества семян за счет повышения содержания белка через нокаут промотора GmNF-YC4-1 или модификацию локуса Glyma.20G85100, а также оптимизации состава жирных кислот путем редактирования генов GmFAD2 и GmFATB1. Проанализированы подходы к управлению фотопериодической чувствительностью через гены E-серии (E1, E3, E4) для расширения ареала возделывания. Описаны методы изменения архитектуры растения и обобщены подходы к усилению устойчивости к стрессам, включая повышение иммунного ответа через ген GmSRC2 и толерантности к абиотическим факторам. Разобран полный технологический цикл редактирования: принципы дизайна гидовых РНК, сравнительный анализ методов доставки (агробактериальная трансформация, биобаллистика, наноносчики), критический разбор главного технологического барьера – низкоэффективной, генотип-зависимой регенерации in vitro. Уделено внимание анализу сопутствующих рисков, в частности проблемы нецелевых эффектов и сложностей мультиплексного редактирования. Отдельный раздел посвящен сравнительному анализу дивергентных правовых режимов для продуктов геномного редактирования в ключевых регионах мира. В заключение сформулированы перспективные направления развития, включая конвергенцию технологий с использованием нуклеаз нового поколения (Cas12, Cas13). Сделан вывод, что редактирование генома трансформирует селекцию из эмпирической дисциплины в область прецизионного биологического проектирования.

Ключевые слова: *соя (Glycine max L.), редактирование генома, CRISPR-Cas, качество семян, фотопериодизм, стрессоустойчивость растений, регенерация растений*

© Тимкин П.Д., Линская П.М., Пензин А.А., 2026
Вестник КрасГАУ. 2026. № 8. С. 3–24.
Bulletin of KSAU. 2026;(8):3-24.

***Для цитирования**:* Тимкин П.Д., Линская П.М., Пензин А.А. Преодоление барьеров традиционной селекции: редактирование генома как инструмент для улучшения сои // Вестник КрасГАУ. 2026. № 8. С. 3–24. DOI: 10.36718/1819-4036-2026-8-3-24.

Финансирование: исследование выполнено в рамках Государственного задания темы НИР № FNGE-2024-0014.

Pavel Dmitrievich Timkin[1]✉, **Polina Mikhailovna Linskaya**[2], **Andrey Andreevich Penzin**[3]
[1,2,3]FSC All-Russian Research Institute of Soybeans, Blagoveshchensk, Russia
[1]tpd@vniisoi.ru
[2]elduspaladium@gmail.com
[3]paa@vniisoi.ru

BREAKING THE BARRIERS OF CONVENTIONAL BREEDING: GENOME EDITING FOR SOYBEAN ENHANCEMENT

The aim of this study is to conduct a comprehensive analysis of current scientific publications devoted to the use of genome editing technologies, primarily the CRISPR-Cas system, for the targeted improvement of agronomically significant traits in soybean (Glycine max L.) and overcoming the key limitations of traditional breeding. A review of 78 publications from international scientific databases (Web of Science, Scopus, PubMed, Google Scholar, and the Russian Science Citation Index) presents a comprehensive analysis of the potential of genome editing technologies, primarily the CRISPR-Cas system, for overcoming the limitations of traditional breeding. The focus is on systematizing the latest advances in the targeted modification of key agronomic traits. Strategies for improving seed quality by increasing protein content through knockout of the GmNF-YC4-1 promoter or modification of the Glyma.20G85100 locus, as well as optimizing fatty acid composition by editing the GmFAD2 and GmFATB1 genes, are considered. Approaches to manipulating photoperiod sensitivity through E-series genes (E1, E3, E4) to expand the cultivation range are analyzed. Methods for modifying plant architecture are described and approaches to enhancing stress tolerance are summarized, including enhancing the immune response through the GmSRC2 gene and tolerance to abiotic factors. The full technological cycle of editing is analyzed: principles of guide RNA design, a comparative analysis of delivery methods (Agrobacterium-mediated transformation, bioballistics, nanocarriers), and a critical examination of the main technological barrier – low-efficiency, genotype-dependent regeneration in vitro. Attention is paid to the analysis of associated risks, in particular the problem of off-target effects and the complexities of multiplex editing. A separate section is devoted to a comparative analysis of divergent legal regimes for genome editing products in key regions of the world. In conclusion, promising development directions are outlined, including the convergence of technologies using next-generation nucleases (Cas12, Cas13). It is concluded that genome editing is transforming breeding from an empirical discipline into a field of precision biological design.

***Keywords**: soybean (Glycine max L.), genome editing, CRISPR-Cas, seed quality, photoperiodism, plant stress tolerance, plant regeneration*

***For citation**:* Timkin PD, Linskaya PM, Penzin AA. Breaking the barriers of conventional breeding: genome editing for soybean enhancement. *Bulletin of KSAU*. 2026;(8):3-24. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2026-8-3-24.

Funding: the study was performed within the framework of the State Assignment for Research and Development (R&D) No. FNGE-2024-0014.

Введение. В связи с ростом численности населения и спроса на соевые продукты повышение урожайности зерна имеет первостепенное значение в селекции сои. В отличие от зерновых культур, попытки улучшить урожайность семян сои достигли незначительного прогресса. Внедрение прикладной генетики в сельское хозяйство посредством селекции растений способствовало разработке гибридных сортов с улучшенной урожайностью. Повышение устойчивости сортов сои к биотическим и абиотическим стрессам позволяет существенно снизить зависимость сельскохозяйственного производства от химических средств защиты растений и удобрений, что дает производителям значимые преимущества [1].

Применение методов генной инженерии существенно упростило создание новых и улучшенных сортов сельскохозяйственных культур, обладающих повышенной устойчивостью к болезням, толерантностью к абиотическим стрессам, улучшенными показателями урожайности и более длительными сроками хранения [2]. Технологии рекомбинантной ДНК обеспечили быструю и точную разработку новых сортов сои, превосходя по эффективности традиционные селекционные методы. Ключевым преимуществом генной инженерии является целенаправленное введение чужеродных генов для создания строго определенных новых признаков. Основные методы трансформации включают агробактериальную систему и биобаллистику, основанную на доставке микрочастиц, покрытых целевой ДНК [3]. Несмотря на потенциальные преимущества, широкое внедрение генетически модифицированных сортов сои сдерживается низким общественным принятием и строгими регуляторными требованиями. Хотя генная инженерия обладает потенциалом для расширения генетического разнообразия путем введения новых генов, существуют технические препятствия, затрудняющие эффективную трансформацию ключевых культур, включая сою. Одной из таких проблем является низкая способность к регенерации *in vitro*. В этом контексте к значимым современным достижениям в селекции растений относится разработка технологии редактирования генома.

Редактирование генома позволяет осуществлять направленные изменения в строго определенных участках генома, при этом необходимые компоненты могут доставляться в клетку без стабильного включения чужеродной ДНК в геном. Технология редактирования генома позволяет создавать различные модификации ДНК, включая делеции, вставки, однонуклеотидные замены (SNP) и замены крупных фрагментов. Для осуществления направленного разрезания целевых участков генома применяются сайт-специфические нуклеазы (SSN): сконструированные мегануклеазы (MN), цинк-пальцевые нуклеазы (ZFN), транскрипционно-активатор-подобные эффекторные нуклеазы (TALEN), а также система CRISPR-Cas, использующая ассоциированный белок Cas [4, 5].

Мегануклеазы – это последовательно-специфические эндонуклеазы с большими (> 14 пар нуклеотидов) сайтами расщепления, создающие двуцепочечные разрывы ДНК (DSB) в определенных локусах в живых клетках [6]. Применение мегануклеаз для индукции гомологичной рекомбинации в заданных локусах генома в растениях открыло новые перспективы для генной инженерии в широком спектре областей [7]. Так, мегануклеазы позволяют корректировать мутации, ответственные за моногенные наследственные заболевания, и избегать рисков, связанных с неконтролируемой интеграцией трансгенов, характерных для традиционных подходов генной инженерии (рис. 1) [8].

Нуклеазы цинковых пальцев (ZFN) – ранняя технология для редактирования генома, связывающегося с ДНК через цинковые пальцы (3 пары нуклеотидов на модуль) и разрезающего ее каталитическим доменом эндонуклеазы FokI. Позволяет точно редактировать гены через индукцию репарации ДНК, но ее применение ограничено сложностью дизайна высокоспецифичных пальцев и их доступностью к мишени в хроматине (см. рис. 1) [9].

Технология TALEN (транскрипционные активатор-подобные нуклеазы) представляет собой технологию для направленного редактирования генома растений, основанного на химерных белках, состоящих из ДНК-связывающего домена бактериального происхождения и каталитического домена эндонуклеазы FokI [10]. После специфического связывания TALEN с целевым участком ДНК каталитический домен эндонуклеазы FokI димеризуется, что приводит к формированию двуцепочечного разрыва в заданном локусе [11]. Эффективность редактирования генома с помощью TALEN сильно варьирует в зависимости от вида растения. Исследования демонстрируют непостоянную результативность технологии для разных сельскохозяйственных культур, что обусловлено такими факторами, как структурная сложность генома, организация хроматина в целевом локусе и наличие повторяющихся последовательностей. В частности модификация GC-богатых участков или плотно упакованных генетических регионов часто демонстрирует сниженную эффективность (см. рис. 1) [12, 13].

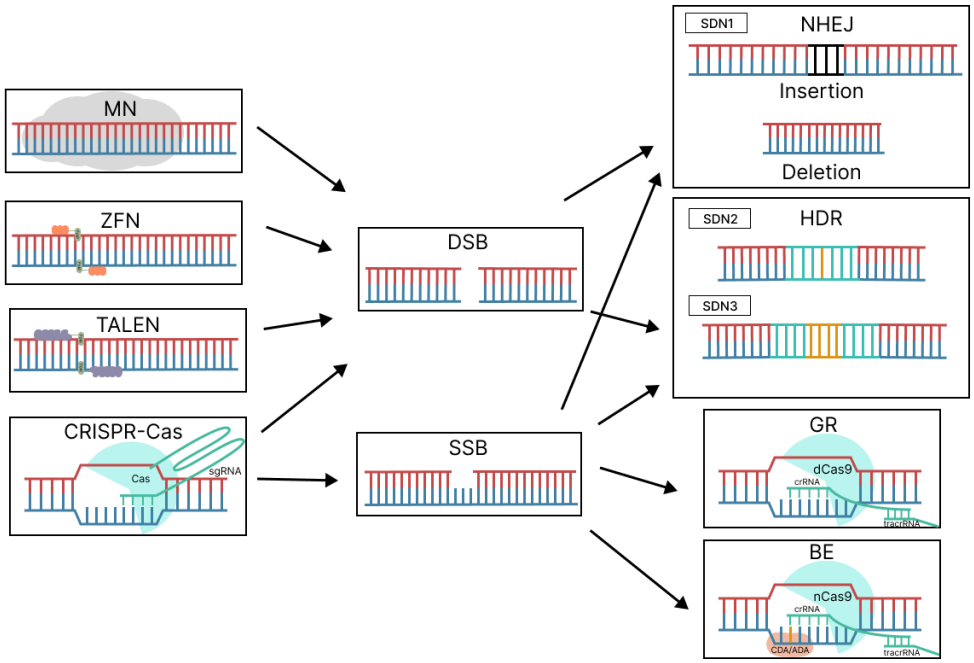


Рис. 1. Механизмы систем редактирования генома
Mechanisms of genome editing systems

Система CRISPR-Cas представляет собой адаптивную иммунную систему бактерий и архей, которая была адаптирована для направленного редактирования генома. Среди различных типов систем CRISPR-Cas для редактирования генома широко применяются системы класса 2, в частности тип II с нуклеазой Cas9 и тип V с нуклеазой Cas12a. Система CRISPR/Cas9 революционизировала генную инженерию за счет использования одноцепочечной направляющей РНК (sgRNA) для нацеливания на специфическую последовательность ДНК, в отличие от более сложных белковых доменов, используемых в ZFN и TALEN [13–16]. Комплекс Cas9-sgRNA связывается с ДНК при условии наличия короткого консервативного протоспейсерного смежного мотива (PAM) и индуцирует двуцепочечный разрыв. Применение CRISPR/Cas9 сопряжено с существенными ограничениями, главными из которых являются потенциальное возникновение нецелевых мутаций и жесткая зависимость от наличия в целевой последовательности специфического PAM-мотива, обогащенного гуанином, что ограничивает спектр доступных для редактирования геномных локусов (см. рис. 1) [17, 18].

Несмотря на сложности, связанные с регенерацией растений сои *in vitro*, методы геномного редактирования позволили модифицировать гены, ответственные за ключевые агрономические признаки. Разработка методов генетической трансформации сои берет начало в конце 1980-х гг. Первые фертильные трансгенные растения были получены с использованием двух основных подходов: агробактериальной трансформации (*Agrobacterium tumefaciens*) семядольных узлов с последующей регенерацией и биобаллистической трансформации меристематических тканей незрелых семян [19, 20]. С середины 1990-х г., когда на рынок была выпущена устойчивая к гербицидам трансгенная соя, эта культура прочно утвердилась в качестве одной из основных биотехнологических культур и одного из самых распространенных в мире ГМО-растений (табл. 1) [21–31].

Многие сорта генетически модифицированной сои обладают улучшенными характеристиками, такими как повышенное содержание олеиновой кислоты, пониженное содержание линоленовой кислоты, задержка цветения, измененная архитектура растения и повышенная урожайность. В числе успешных примеров редактирования генов, контролирующих сроки цветения, можно назвать уровень накопления липидов и белков в семенах, архитектуру корневой системы (в частности рост боковых корней), а также элементы механизмов устойчивости к патогенам.

Таблица 1

Применение CRISPR-Cas для модификации хозяйственно ценных признаков сои
CRISPR-Cas applications for improving agronomic traits in soybean

Признак	Эффект	Мишень	Метод трансформации
Содержание белка	Повышено общее содержание белка	Промотор *GmNF-YC4-1* [21]	CRISPR-Cas9
		GmPDHK [22]	Плазмидная конструкция для РНК-интерференции
		GmAIP2 [23]	CRISPR-Cas9
	Снижено: содержание *β*-конглицинина Повышено: соотношение 11S/7S глобулинов, общее содержание белка, содержание серосодержащих аминокислот	*GmCG-1/GmCG-2/ GmCG-3* [24]	CRISPR-Cas9
Содержание масла	Повышено содержание олеиновой кислоты, снижено содержание линолевой кислоты	*GmFAD2-1A/GmFAD2-1B* [25]	CRISPR/SpRY
	Повышено содержание олеиновой кислоты, снижено содержание линолевой и линоленовой кислот	*GmFATA1/GmFATA2* [26]	CRISPR-Cas9
	Повышено общее содержание жирных кислот, содержание олеиновой кислоты, снижено содержание линолевой кислоты	*GmSFAR4a/GmSFAR4b* [27]	CRISPR-Cas9
Соотношение белок/масло	Повышено: содержание масла и содержание белка	*GmSWEET10a* [28]	CRISPR-Cas9
	Повышено: содержание масла. Снижено: содержание белка	*GmSWEET10b* [28]	CRISPR-Cas9
Рост и развитие	Задержка/подавление цветения: усиленный вегетативный рост. Значительное повышение количества стручков и семян	*GmFT2a/GmFT5a* [29]	CRISPR-Cas9
	Значительное увеличение общего количества семян. Повышение общей урожайности семян	*GmJAG1* [30]	CRISPR-Cas9
	Увеличение числа ветвей, увеличение числа узлов, увеличение биомассы	*GmSPL9* [31]	CRISPR-Cas9
Цветение	Полный нокаут *E1* приводит к максимальному ускорению развития, цветению примерно через 26,6 дней. Создание аллелей с заменой (*E1-Sub*) обеспечивает промежуточный эффект с цветением через 48,2 дня. Модификации гена *E1lb* имеют более слабое влияние, сдвигая сроки цветения всего на 3–9 дней	*E1/E1lb* [32]	CRISPR/LbCas12a
	Подход обеспечивает более мягкую задержку цветения, чем полный нокаут, частичное сохранение функции целевого гена	*GmFT2a* [33]	Cas9n(D10A)
	Умеренная и фотопериод-зависимая задержка: Короткий день – эффекта нет. Длинный день – задержка на 1,8–2,1 дня. Длинный день – задержка на 3,0–3,2 дня	*GmFT5b* [34]	CRISPR-Cas9
Устойчивость к патогенам	У восприимчивых сортов значительное повышение устойчивости к *SCN*. У высокоустойчивых линий существенных изменений не наблюдается	*GmSNAP02* [35]	CRISPR-Cas9
	Повышение устойчивости к *Phytophthora sojae*, снижение размера поражений на растении. Сохранен нормальный рост и урожайность	*GmTAP1* [36]	CRISPR-Cas9

Цель исследования – провести комплексный анализ современных научных публикаций, посвященных применению технологий редактирования генома, в первую очередь системы CRISPR-Cas, для целенаправленного улучшения агрономически значимых признаков сои (*Glycine max* L.) и преодоления ключевых ограничений традиционной селекции.

Задачи: проанализировать массив публикаций в международных научных базах данных, включая Web of Science, Scopus, PubMed, Google Scholar и РИНЦ, за последние 10–15 лет по ключевым направлениям редактирования генома сои; систематизировать современные достижения по направленной модификации таких признаков, как качество семян (белковый и липидный состав), фотопериодическая чувствительность, архитектура растения и устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам; изучить полный технологический цикл, охватывающий методы доставки (агробактериальная трансформация, биобаллистика) и главный технологический барьер – низкоэффективную, генотип-зависимую регенерацию растений *in vitro*; обобщить данные о сопутствующих технологических рисках, таких как нецелевые эффекты, и провести сравнительный анализ правовых режимов для продуктов геномного редактирования в различных странах; сформулировать на основе проведенного анализа выводы и перспективные направления развития технологии для селекции сои.

Результаты и их обсуждение

Цели и достижения редактирования генома сои. Повышение питательной ценности и технологических свойств семян сои является одной из первостепенных целей современной селекции. Традиционные методы сталкиваются с трудностями из-за полигенного контроля большинства этих признаков и наличия сильных негативных корреляций (например между содержанием белка и масла или белка и урожайностью). Редактирование генома, в частности система CRISPR-Cas, открывает возможность для целенаправленного изменения ключевых генов-регуляторов, что позволяет преодолевать эти барьеры и создавать линии сои с улучшенным составом (табл. 2) [37–39].

Таблица 2

Потенциальные мишени для редактирования у сои
Potential targets for genome editing in soybean

Признак	Ключевые генетические мишени	Механизм и цель редактирования	Результаты
Состав белка	*Glyma.20G85100*	Нокаут или редактирование аллеля: удаление 321-п.н. инсерции в гене для повышения содержания белка	Идентификация основного QTL (cqSeed protein-003). Аллель с высокой долей белка повышает содержание на 1–2 % (2–3,3 % абс.). Внесение высокобелкового аллеля из *G. soja* или сорта Danbaekkong
	Модуль *miR172a* – *ERF416/413*	Регуляция экспрессии: изменение активности микроРНК *miR172a* и ее генов-мишеней	Сверхэкспрессия MIR172a уменьшала размер семян, но повышала содержание белка. Гаплотип *ERF416 Hap3* связан с высоким содержанием масла
Жирные кислоты	Гены *GmFATB1* (*GmFATB1a*, *GmFATB1b*)	Нокаут: отключение генов ацил-АКП-тиоэстераз для снижения доли насыщенных жирных кислот	Нокаут *GmFATB1* с помощью CRISPR-Cas9 снизил содержание пальмитиновой и стеариновой кислот в масле семян на 39–53 и 17–37 % соответственно. Относительное содержание полезной линолевой кислоты выросло на 1,3–3,6 %
	Модуль *miR172a* – *ERF416/413*	Регуляция экспрессии: изменение профиля жирных кислот	Сверхэкспрессия *MIR172a* снижала содержание пальмитиновой, стеариновой, олеиновой и линолевой кислот, одновременно повышая содержание линоленовой кислоты

Целевое редактирование для оптимизации белкового состава. Одной из наиболее значимых мишеней в этой области является локус *Glyma.20G85100*, расположенный в основном QTL (cqSeed protein-003), ответственном за содержание белка в семенах [37]. Исследования показали, что высокобелковый фенотип ассоциирован с аллелем дикого типа, тогда как в современных селекционных линиях широко распространен аллель со вставкой размером 321 п.н., снижающий накопление белка. Задача редактирования заключается в нокауте или точной замене этого дефектного аллеля, что позволяет повысить содержание белка на 1–2 % (или на 2–3,3 % в абсолютных единицах). Важным источником ценных аллелей является дикорастущая соя (*Glycine soja*) и традиционные азиатские сорта (например Danbaekkong), и редактирование генома предоставляет технологию для эффективной интрогрессии этих аллелей в элитные сорта без «генетического груза». Другим перспективным объектом является эпигенетический модуль *miR172a-ERF416/413* [38]. Сверхэкспрессия микроРНК *MIR172a*, которая подавляет гены семейства *AP2/ERF*, приводит к уменьшению размера семян, но одновременно к значительному увеличению содержания белка. Эта сложная регуляторная сеть требует тонкой настройки, например, путем редактирования промоторов ключевых генов, чтобы разорвать нежелательную связь между признаками.

Модификация профиля жирных кислот. Качество соевого масла напрямую определяется соотношением жирных кислот. Высокое содержание насыщенных кислот, таких как пальмитиновая и стеариновая, считается нежелательным с точки зрения здорового питания. Ключевой мишенью для снижения их уровня являются гены семейства *GmFATB* (ацил-АКП-тиоэстеразы), которые катализируют конечный этап синтеза насыщенных жирных кислот. Нокаут гена *GmFATB1* с использованием CRISPR-Cas9 позволил получить линии, в которых содержание пальмитиновой кислоты снизилось на 39–53 %, а стеариновой – на 17–37 %. В результате относительная доля полезной полиненасыщенной линолевой кислоты в масле увеличилась. Как и в случае с белковым составом, модуль *miR172a-ERF416/413* также оказывает влияние на липидный обмен. Его редактирование может смещать баланс в сторону увеличения доли олеиновой или линоленовой кислот, что повышает окислительную стабильность масла или его питательную ценность соответственно [38, 39].

Главным технологическим и селекционным вызовом остается негативная корреляция между содержанием белка и урожайностью. Внедрение высокобелкового аллеля *Glyma.20G85100* зачастую ведет к снижению продуктивности растения. Редактирование генома позволяет решать эту проблему комплексно, например, путем одновременной тонкой регуляции генов, контролирующих источник и сток ассимилятов в растении. Таким образом, технология переходит от редактирования единичных генов к системной инженерии метаболических путей, что необходимо для создания сбалансированных и высокопродуктивных сортов нового поколения.

Гены *E1*, *E2*, *E3*, *E4* являются ключевыми локусами, определяющими реакцию сои на фотопериод и лежащими в основе скороспелости и экологической адаптации этой культуры. К настоящему времени идентифицировано 12 основных локусов (*E1–E11* и *J*), но именно гены *E1*, *E3*, *E4* имеют решающее значение для выращивания сои в различных широтах (табл. 3) [40].

В совокупности они формируют генетический механизм, который позволяет сое адаптироваться к разной продолжительности светового дня, определяя сроки цветения, продолжительность вегетации и, в конечном счете, урожайность [41, 42].

Учитывая, что естественная изменчивость генов фотопериодической чувствительности формируется за счет определенных мутаций, к ним можно подойти с позиций технологий редактирования генома, целенаправленно воспроизводя эти природные аллельные варианты. Альтернативной стратегией является не индукция полиморфизмов, а подавление экспрессии целевых генов путем направленного воздействия на их промоторные области.

Таблица 3

Основные функции и аллели генов чувствительности к фотопериодизму
Functions and allelic variation of key photoperiod sensitivity genes

Ген	Основная функция и механизм действия	Рецессивные аллели (обеспечивают скороспелость)	Влияние на фенотип и адаптацию
E1	Главный репрессор цветения, фактор транскрипции с B3-доменом. Играет наибольшую роль в контроле сроков цветения и созревания	*e1-nl*, *e1-fs* (делеции), *e1-as* (SNP, частичная потеря функции)	Нокаут или ослабление функции *E1* приводит к раннему цветению и созреванию, что критически важно для адаптации в высоких широтах с длинным днем
E3	Кодирует фоторецептор фитохром A GmPhyA3. Воспринимает сигнал красного света и в условиях длинного дня активирует экспрессию гена *E1*	*e3-tr*, *e3-fs*, *e3-ns* (делеции, сдвиг рамки считывания, нонсенс-мутация)	Рецессивные аллели снижают чувствительность к длинному дню, способствуя более раннему цветению. Оказывает значимое влияние на сроки цветения в широком диапазоне широт
E4	Кодирует фоторецептор фитохром A GmPhyA2. Активирует *E1* преимущественно в условиях низкого соотношения красного/дальнего красного света	*e4-SORE*-1 (крупная инсерция), *e4-kes*, *e4-par* (сдвиг рамки считывания)	Вклад в раннее цветение наиболее выражен в условиях высоких широт. Влияет на дату наступления полного цветения

Целенаправленное редактирование генов, контролирующих архитектуру растения, открывает принципиально новые возможности для преодоления ограничений традиционной селекции в повышении урожайности сои. Ярким примером является манипуляция консервативным путем *miR156-SPL*. Сверхэкспрессия *GmmiR156b* в трансгенных растениях приводила к значительному увеличению числа ветвей, узлов и бобов, повышая урожайность на 46–63 % на растение. Более того, прямое редактирование с помощью CRISPR-Cas9 генов-мишеней этой микроРНК – факторов транскрипции семейства *GmSPL9* – позволило получить мутантные линии с увеличенным числом узлов на главном стебле и ветвлением [43]. Это доказывает, что ингибирование генов семейства *SPL9* является ключевым механизмом, лежащим в основе улучшенной архитектуры. Еще одной стратегической мишенью является ген *Dt1* (*GmTFL1b*), главный регулятор типа роста стебля. Классические генетические исследования и современные методы редактирования направлены на создание рецессивного аллеля *dt1*, который переводит растение в детерминантный тип роста, обеспечивая компактный габитус, устойчивость к полеганию и приспособленность к механизированной уборке [44]. Таким образом, современные технологии геномного редактирования позволяют перейти от единичных модификаций к системной инженерии архитектуры растения, комбинируя аллели, отвечающие за ветвление (*miR156/SPL*), и тип роста (*Dt1*), для создания высокопродуктивных сортов нового поколения [45].

Создание сортов сои, устойчивых к патогенам и экстремальным условиям окружающей среды, является одним из приоритетных направлений современной селекции с целью стабилизации производства высокобелкового зерна. Технологии редактирования генома, и в особенности система CRISPR-Cas, открывают новые возможности для прецизионного улучшения этих сложных полигенных признаков, позволяя точечно модифицировать ключевые гены в собственной ДНК растения без встраивания чужеродных последовательностей [46].

Перспективной стратегией является усиление естественных механизмов иммунного ответа растения. Ярким примером служит ген *GmSRC2*, кодирующий белок, содержащий C2 домен. Исследования 2024 г. продемонстрировали, что сверхэкспрессия этого гена в трансгенных линиях сои приводит к значительному повышению устойчивости к возбудителю фитофторозной корневой и стеблевой гнили (*Phytophthora sojae*) – одному из наиболее разрушительных заболеваний сои [47]. Повышенная устойчивость была связана с активацией ключевых антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и пероксидазы) и накоплением

активных форм кислорода (АФК) в ответ на инфекцию. Кроме того, было показано, что белок *GmSRC2* напрямую взаимодействует с эффекторным белком патогена *PsAvh23*, что указывает на его центральную роль в распознавании инфекции и запуске защитных реакций [47]. Данный ген представляет собой конкретную и валидированную мишень для направленного редактирования, например, для усиления экспрессии его природных промоторных последовательностей с использованием CRISPR-активаторов (CRISPRa).

Устойчивость к засухе и засолению контролируется комплексными физиолого-биохимическими и генетическими сетями. Физиологическими маркерами толерантности у сои являются поддержание высокой фотосинтетической активности, стабильности клеточных мембран, водного потенциала, а также эффективная работа антиоксидантной системы и аккумуляция осмопротекторов (пролина, глицинбетаина) [48]. На генетическом уровне ключевыми являются гены, регулирующие эти процессы. Транскриптомный анализ позволил выявить ряд генов семейства *AP2/ERF* (этилен-чувствительных факторов), экспрессия которых значимо повышается при стрессе. Например, было показано, что ген *GmERF205* является положительным регулятором ответа на засуху, а его сверхэкспрессия способствует лучшему росту и развитию корневой системы в условиях дефицита влаги [49]. Кроме того, важную роль играют гены, участвующие в детоксикации АФК (такие как *GmSOD*, *GmCAT1*, *GmPOD1*), биосинтезе пролина (*GmP5CS*), а также в поддержании ионного гомеостаза при засолении (например, *GmNHX1* и *GmAKT1*, регулирующие соотношение Na^+/K^+) [48]. Направленное редактирование промоторных областей этих генов для усиления их экспрессии представляет собой перспективный путь создания стресс-толерантных линий.

Таким образом, редактирование генома переходит от работы с единичными генами к системному проектированию устойчивости, целенаправленно разрывая негативные корреляции и создавая сбалансированные генотипы для интенсивного и устойчивого земледелия.

Стратегии и технологические платформы. Успешное применение технологии CRISPR-Cas в селекции сои в значительной степени определяется правильным выбором молекулярной стратегии, которая должна соответствовать конкретной биологической задаче: полному отключению гена, внесению новой ценной последовательности или тонкой настройке его активности. Три ключевые стратегии – нокаут (knockout), нок-ин (knock-in) и регуляция экспрессии – представляют собой последовательно усложняющиеся технологические платформы, позволяющие перейти от грубых модификаций к прецизионной инженерии сложных хозяйственно ценных признаков.

Нокаут гена – это наиболее простая и высокоэффективная стратегия, реализуемая путем индукции двунитевых разрывов ДНК в целевой кодирующей последовательности системой CRISPR-Cas [50]. Данный подход является преобладающим в практике редактирования растений и идеально подходит для функциональной инактивации генов [51]. Он эффективно применяется для отключения генов, кодирующих нежелательные признаки, как, например, в классическом для сои случае нокаута генов семейства *GmFATB1* (ацил-АКП-тиоэстераз), что приводит к значительному снижению содержания насыщенных пальмитиновой и стеариновой жирных кислот в семенах [39]. Эта же стратегия успешно используется для инактивации негативных регуляторов желательных признаков, таких как гены семейства *SPL9*, ингибирование которых способствует улучшению архитектуры растения и повышению потенциала урожайности, а также для отключения генов восприимчивости (*S-генов*) к патогенам. Главное преимущество стратегии нокаута заключается в ее высокой эффективности и предсказуемости результата в виде потери функции белка [50]. Однако ее принципиальное ограничение состоит в неприменимости для улучшения тех признаков, где требуется не устранение, а улучшение или изменение функции белка.

В тех случаях, когда цель редактирования заключается не в простом отключении гена, а в прецизионной замене или вставке определенной нуклеотидной последовательности, применяется стратегия нок-ина (вставки гена-донора) [52, 53]. Эта стратегия незаменима для прецизионной аллельной замены, такой как внедрение ценного аллеля от дикого предка (*Glycine soja*) или традиционного сорта в элитный генотип. Классическим примером для сои служит замена дефектного аллеля в локусе *Glyma.20G85100* на функциональный «высокобелковый» вариант [54]. Несмотря на потенциал,

эффективность данного подхода у растений, включая сою, исторически оставалась низкой по сравнению с нокаутом, что долгое время являлось серьезным технологическим барьером [55]. Однако данная техника претерпела модификации, открыв путь для реализации более сложных селекционных модификаций [56].

Наиболее сложная и перспективная стратегия направлена не на изменение кодирующей последовательности гена, а на модуляцию уровня, времени или тканеспецифичности его экспрессии [57]. Это достигается с использованием недеактивированной нуклеазы Cas9 (dCas9), которая сохраняет способность к связыванию с ДНК по заданной гидовой РНК, но не индуцирует разрывов двойной спирали [58]. Эта платформа, известная как CRISPRa/i (activation/interference), позволяет как усиливать, так и ослаблять экспрессию целевых генов, что открывает путь к управлению комплексными признаками [59]. Например, она используется для активации генов семейства *AP2*/*ERF* (таких как *GmERF205*) с целью повышения устойчивости растений к засухе, а также для ослабления экспрессии ключевых генов в пути биосинтеза олигосахаридов с целью улучшения питательных свойств. Более того, тонкая настройка экспрессии генов в регуляторном модуле с помощью CRISPRa/i предоставляет уникальную возможность разорвать нежелательные негативные корреляции между признаками, позволяя, например, повысить содержание белка в семенах без критического уменьшения их размера.

Таким образом, выбор между стратегиями нокаута, нок-ина и регуляцией экспрессии определяется конкретной селекционной задачей: от простого отключения нежелательного гена до прецизионной имитации ценных аллелей и тонкой балансировки сложных метаболических и регуляторных сетей. Развитие технологий, особенно в области повышения эффективности HDR и CRISPR-эпигенетики, является ключом к полной реализации потенциала редактирования генома для создания принципиально новых, высокопродуктивных и устойчивых сортов сои.

Доставка компонентов CRISPR-Cas (белка, гидовой РНК и, при необходимости, донорной матрицы) в клетки сои остается ключевым технологическим вызовом [60]. Для его решения применяют три принципиально разных подхода, выбор между которыми определяется задачами исследования и характеристиками сорта (табл. 4) [60–64].

Таблица 4

Методы трансформации растений
Methods of plant transformation

Показатель	*Agrobacterium*-опосредованная трансформация	Биобаллистика	Доставка с помощью наноперенос чиков (липосомы, углеродные нанотрубки)
1	2	3	4
Основной принцип	Бактерия *A. tumefaciens* естественным путем передает Т-ДНК с конструкцией в геном растения	Микрочастицы золота / вольфрама, покрытые ДНК или RNP, с высокой скоростью «выстреливаются» в клетки	Наночастицы защищают и переносят нуклеиновые кислоты или RNP-комплексы через клеточную стенку
Лучше всего подходит	Для стабильной трансформации; получения линий с низким числом вставок; большинства задач, где не требуется доставка крупных фрагментов	Для генотип-независимой трансформации; доставки крупных ДНК-фрагментов; редактирования органелл (хлоропластов)	Для быстрой доставки RNP-комплексов (Cas9+sgRNA) без интеграции чужеродной ДНК; точечной настройки экспрессии
Ключевые преимущества	Высокая эффективность; низкая стоимость; возможность доставки белково-ДНК комплексов	Не зависит от вида растения; простота операции; высокая эффективность трансформации пластид	Высокая биосовместимость и трансформационная эффективность; видонезависимость; возможность прецизионной доставки

Окончание табл. 4

1	2	3	4
Основные ограничения	Зависимость от генотипа сои; сложность и длительность протоколов регенерации	Высокая стоимость оборудования и расходников; повреждение тканей и гибель клеток; многокопийные вставки и сложные перестройки ДНК	Технология на ранней стадии разработки для растений; ограниченный выбор наноносителей

Agrobacterium-опосредованная трансформация – исторически основной метод для сои, обеспечивающий стабильную интеграцию с низким числом копий. Его главный недостаток – сильная зависимость от генотипа, что ограничивает работу со многими коммерческими сортами [60, 61]. Биобаллистика (частичная бомбардировка) обходит эту проблему, обеспечивая генотип-независимую доставку. Однако этот метод чаще приводит к сложным многокопийным вставкам и структурным перестройкам ДНК [62]. Наиболее перспективным направлением считается доставка с помощью нанопереносчиков, которые могут доставлять преформированные рибонуклеопротеиновые комплексы (RNP) без интеграции чужеродной ДНК [63]. Это потенциально снижает регуляторные барьеры и риски нецелевых эффектов, но для сои метод пока остается на экспериментальной стадии [64].

Таким образом, в арсенале исследователей есть как проверенные, но ограниченные генотипом методы (*Agrobacterium*), так и более универсальные, но технически сложные (биобаллистика), а также развивающиеся технологии будущего (наноносители), каждая со своим балансом преимуществ и недостатков. Ключевым этапом после получения трансформантов является сегрегация трансгена. Для *Agrobacterium*-опосредованной трансформации, как правило, требуется отбор в поколениях T1–T3 для получения гомозиготных линий с единственной копией вставки. При доставке RNP-комплексов (без ДНК) растения уже в поколении T0 могут быть трансген-свободны, а желаемое редактирование стабильно наследуется по менделевским законам, начиная с T1.

Успех введения чужеродной ДНК в сою кардинально зависит от выбора метода доставки, который диктует и тип используемого растительного материала. Два основных технологических подхода – *Agrobacterium*-опосредованная трансформация и биобаллистика – требуют принципиально разных стратегий подготовки эксплантов, что связано с фундаментальным различием их механизмов: биологического против физического (рис. 2).

Agrobacterium-опосредованная трансформация и биобаллистика (частичная бомбардировка) представляют два принципиально разных подхода к доставке генетического материала в клетки сои, что определяет разницу в используемых эксплантах и итоговых характеристиках трансформантов.

Agrobacterium-метод, основанный на естественном механизме переноса ДНК бактерией *A. tumefaciens*, требует тканей с высокой регенерационной способностью и доступных для инфекции [65]. Наиболее продуктивными эксплантами являются семядольные узлы и «полусемена», в которых критически важно сохранить жизнеспособность пазушной меристемы [66]. Альтернативой служат незрелые зародыши, обладающие максимальной тотипотентностью. Общий принцип – создание раневой поверхности для инфицирования с последующей кокультивацией, отбором и регенерацией побегов непосредственно из меристемы. Это обеспечивает стабильную трансформацию с низким числом копий, но делает метод сильно зависимым от генотипа растения [67].

В отличие от этого, биобаллистика – это физический метод доставки ДНК или RNP-комплексов с помощью микрочастиц. Он предъявляет иные требования к мишени, нуждаясь в обширном слое однородных, активно делящихся клеток. Поэтому основным материалом здесь служат эмбриогенные каллусные культуры, индуцированные из зародышей или гипокотилей. Это позволяет методу быть универсальным и не зависеть от генотипа, а также доставлять преформированные RNP-комплексы для CRISPR/Cas, что дает возможность получать растения, свободные от чужеродной ДНК. Однако данный подход сопряжен с более длительным циклом регенерации через соматический эмбриогенез и повышенным риском возникновения сложных многокопийных вставок трансгена [68].



Рис. 2. Авторская схема методов трансформации сои
Author's scheme of soybean transformation methods

Ключевым технологическим барьером в редактировании генома сои (*Glycine max* L.) является низкоэффективная и генотип-зависимая регенерация фертильных растений из трансформированных соматических клеток. Процесс осложняется слабым регенерационным потенциалом, особенно у элитных сортов [69].

Оптимизация начинается с выбора высокотопотентного экспланта: незрелых зародышей, сегментов гипокотиля или семядольных узлов [70]. Стандартный протокол включает каскадный процесс на селективных средах: индукцию каллуса, отбор трансформантов и последующую редифференцировку через соматический эмбриогенез или органогенез [71]. Однако длительность цикла (6–12 месяцев), низкий выход растений, риск сомаклональных вариаций и необходимость удаления селективных маркеров делают процесс узким местом [72].

Для ускоренной валидации sgRNA *in vitro* применяется трансфекция протопластов, позволяющая оценить эффективность редактирова-

ния за 48–72 ч [71]. Однако этот подход не решает проблему регенерации, так как эффективные методы получения растений из протопластов сои отсутствуют [73].

Риски, ограничения и будущие направления. Практическое применение редактирования генома для улучшения сложных полигенных признаков, таких как преодоление негативной корреляции «белок – урожайность» у сои, сталкивается с рядом фундаментальных технологических барьеров. Первым и наиболее сложным ограничением является низкая и непредсказуемая эффективность трансформации и регенерации полноценных растений из отредактированных клеток, особенно для элитных коммерческих сортов сои. Данный процесс (*in vitro* регенерация) остается генотип-зависимым, длительным (6–12 месяцев) и часто приводит к низкому выходу фертильных растений или сомаклональным вариациям [74]. Ключевым вызовом также является точность редактирования. Несмотря на высокую специфичность систем CRISPR-Cas, риск нецелевых мутаций (off-target effects) в геномах с большим количеством повторяющихся последовательностей, характерных для сои, требует тщательного дизайна гидовых РНК и валидации результатов секвенированием. Для коррекции полигенных признаков необходим мультиплексный подход – одновременное редактирование нескольких генов. Однако с увеличением числа мишеней экспоненциально снижается общая эффективность и усложняется отбор растений с нужным набором модификаций. Более того, вмешательство в сложные метаболические сети, регулирующие такие признаки, как содержание белка и урожайность, может приводить к непредвиденным плейотропным эффектам, нарушающим общую жизнеспособность и адаптивность растения.

Будущее селекции сои лежит на пути конвергенции нескольких революционных технологий. Помимо системы CRISPR-Cas9, в арсенал входят нуклеазы нового поколения (Cas12, Cas13) [75]. Белок Cas12, требующий для распознавания мишени более короткого PAM-мотива, обогащенного тимином (T), расширяет спектр доступных для редактирования участков генома. Cas13 нацелен не на ДНК, а на РНК, что открывает возможности для временного, обратимого подавления экспрессии генов без изменения генетического кода – технология для тонкой настройки метаболических путей. Кульминацией этого технологического синтеза станет интеграция прецизионного редактирования с геномной селекцией и искусственным интеллектом [76]. Машинное обучение позволит анализировать большие данные (геномные, фенотипические, метаболомические) для точного прогнозирования оптимальных генетических мишеней и результатов их модификации [77]. Таким образом, селекция перейдет от эмпирического отбора к системному проектированию идеальных генотипов, сочетающих высокую продуктивность, улучшенное качество и устойчивость к стрессам.

Правовое регулирование. Статус растений, полученных редактированием генома, различается по регионам. В США и Канаде действует продукто-ориентированная модель: если организм не содержит чужеродной ДНК и его изменения могли быть достигнуты традиционной селекцией, он, как правило, не подпадает под строгий контроль как ГМО, но требует маркировки. Европейский Союз переходит от единого строгого регулирования к двухуровневой системе для «новых геномных техник» (NGTs). Растения NGT-1 (с естественными изменениями) будут освобождены от требований к ГМО, в то время как NGT-2 останутся под контролем. Китай и Россия формально относят такие организмы к ГМО, требуя сложной регистрации. В России коммерческое использование практически отсутствует, тогда как Китай активно развивает исследования, адаптируя законодательство под новые вызовы [78].

Заключение. Редактирование генома, в первую очередь система CRISPR-Cas, доказало свою эффективность как технология прецизионного улучшения сои, позволив направленно модифицировать качество семян, архитектуру растения, фотопериодическую чувствительность и устойчивость к стрессам. Например, создан сорт Huachun 6 с повышенной урожайностью за счет редактирования гена *GmJAGGED1*, а также высокоолеиновые линии на основе нокаута генов *GmFAD2*, демонстрирующие эффективность подхода. Однако ее широкое практическое внедрение сдерживается комплексом технологических (низкая эффективность трансформации и регенерации, риск нецелевых эффектов), биологических (сложность полигенных признаков и негативных корреляций) и регуляторных барьеров (отсутствие глобальной гармонизации законодательства). Будущее селекции сои лежит в интеграции геномного редакти-

рования с геномной селекцией и искусственным интеллектом. Редактирование станет высокоточной технологией для создания целевой генетической вариации, а современные методы отбора, такие как генотипирование по маркерам (MAS) и геномная селекция (GS), позволят выявлять и отбирать генотипы с нужным сочетанием ценных признаков уже в ранних поколениях (T1–T2), сокращая селекционный цикл в 2–3 раза по сравнению с классическими методами. Развитие систем нового поколения (Cas12, Cas13) откроет возможность для преодоления фундаментальных ограничений, таких как негативная корреляция «белок – урожайность». Важно отметить, что «системное биологическое проектирование» не отменяет эмпирическую селекцию полностью: процесс от создания отредактированных линий до регистрации сорта по-прежнему занимает 5–7 лет и требует полевых испытаний. Однако целенаправленное редактирование позволяет сократить объемы «слепого» отбора и сделать процесс более предсказуемым, снижая итоговые затраты на 30–40 % по сравнению с традиционным бэккроссированием. Таким образом, редактирование генома переводит селекцию из эмпирической области в область системного биологического проектирования. Это открывает путь к созданию принципиально новых сортов сои, которые будут сочетать высокую продуктивность, улучшенное качество и устойчивость к стрессам, что критически важно для обеспечения продовольственной безопасности в условиях растущего спроса и изменяющегося климата.

Список источников

1. Nerkar G., Thorat A., Sheelavantmath S., et al. Genetic Transformation of Sugarcane and Field Performance of Transgenic Sugarcane In: Biotechnologies of Crop Improvement. Vol. 2. Springer, Cham; 2018. P. 163–185. DOI: 10.1007/978-3-319-90650-8_9.
2. Rahman S.U., McCoy E., Raza G., et al. Improvement of Soybean; A Way Forward Transition from Genetic Engineering to New Plant Breeding Technologies // Molecular Biotechnology. 2023. Vol. 65, N 2. P. 162–180. DOI: 10.1007/s12033-022-00456-6.
3. Bélanger J.G., Copley T.R., Hoyos-Villegas V., et al. A comprehensive review of in planta stable transformation strategies // Plant Methods. 2024. Vol. 20, N 1. P. 79. DOI: 10.1186/s13007-024-01200-8.
4. Smith J., Grizot S., Arnould S., et al. A combinatorial approach to create artificial homing endonucleases cleaving chosen sequences // Nucleic Acids Research. 2006. Vol. 34, N 22. e149. DOI: 10.1093/nar/gkl720.
5. Jinek M., Chylinski K., Fonfara I., et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity // Science. 2012. Vol. 337, N 6096. P. 816–821. DOI: 10.1126/science.1225829.
6. Thierry A., Dujon B. Nested chromosomal fragmentation in yeast using the meganuclease I-Sce I: a new method for physical mapping of eukaryotic genomes // Nucleic Acids Research. 1992. Vol. 20, N 22. P. 5625–5631.
7. Chiurazzi M., Ray A., Viret J.F., et al. Enhancement of somatic intrachromosomal homologous recombination in Arabidopsis by the HO endonuclease // The Plant Cell. 1996. Vol. 8, N 11. P. 2057–2066.
8. Hacein-Bey-Abina S., Von Kalle C., Schmidt M. et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1 // Science. 2003. Vol. 302, N 5644. P. 415–419. DOI: 10.1126/science.1088547.
9. Carroll D. Genome engineering with zinc-finger nucleases // Genetics. 2011 Vol. 188, N 4. P. 773–782. DOI: 10.1534/genetics.111.131433. PMID: 21828278; PMCID: PMC3176093.
10. Khan Z., Khan S., Mubarik M., et al. Use of TALEs and TALEN technology for genetic improvement of plants // Plant Molecular Biology Reporter. 2017. Vol. 35, N 1. P. 1–19. DOI: 10.1007/s11105-016-0997-8.
11. Li T., Huang S., Jiang W.Z., et al. TAL nucleases (TALNs): hybrid proteins composed of TAL effectors and FokI DNA-cleavage domain // Nucleic Acids Research. 2011. Vol. 39, N 1. P. 359–372. DOI: 10.1093/nar/gkq704.

12. Zhao H., Wolt J.D. Risk associated with off-target plant genome editing and methods for its limitation // Emerging Topics in Life Sciences. 2017. Vol. 1, N 2. P. 231–240.
13. González Castro N., Bjelic J., Malhotra G., et al. Comparison of the Feasibility, Efficiency, and Safety of Genome Editing Technologies // International Journal of Molecular Sciences. 2021. Vol. 22, N 19. Art. 10355. DOI: 10.3390/ijms221910355.
14. Charpentier E., Richter H., van der Oost J., et al. Biogenesis pathways of RNA guides in archaeal and bacterial CRISPR-Cas adaptive immunity // FEMS Microbiology Reviews. 2015. Vol. 39, N 3. P. 428–441. DOI: 10.1093/femsre/fuv023.
15. Kumar K., Gambhir G., Dass A., et al. Genetically modified crops: current status and future prospects // Planta. 2020. Vol. 251, N 4. P. 91. DOI: 10.1007/s00425-020-03372-8.
16. Makarova K.S., Haft D.H., Barrangou R., et al. Evolution and classification of the CRISPR–Cas systems // Nature Reviews Microbiology. 2011. Vol. 9, N 6. P. 467–477. DOI: 10.1038/nrmicro2577.
17. Shamshirgaran Y., Liu J., Sumer H., et al. Tools for Efficient Genome Editing; ZFN, TALEN, and CRISPR. In: Applications of Genome Modulation and Editing. New York, NY: Humana, 2022. P. 29–48. DOI: 10.1007/978-1-0716-2301-5_2.
18. Mishra S., Nayak S., Tuteja N., et al. CRISPR/Cas-Mediated Genome Engineering in Plants: Application and Prospectives // Plants. 2024. Vol. 13, N 14. P. 1884. DOI: 10.3390/plants13141884.
19. McCabe D.E., Swain W.F., Martinell B.J., et al. Stable transformation of soybean (Glycine max) by particle acceleration // BioTechnology. 1988. Vol. 6. P. 923–926.
20. Hinchee M., Connor-Ward D., Newell C.A., et al. Production of Transgenic Soybean Plants Using Agrobacterium-Mediated DNA Transfer // BioTechnology. 1988. Vol. 6. P. 915–922.
21. Wang L., O'Conner S., Tanvir R., et al. CRISPR/Cas9-based editing of NF-YC4 promoters yields high-protein rice and soybean // New Phytologist. 2025. Vol. 245, N 5. P. 2103–2116. DOI: 10.1111/nph.20141.
22. Jones S.I., Hunt M.R., Vodkin L.O. An embryo lethal transgenic line manifests global expression changes and elevated protein/oil ratios in heterozygous soybean plants // PLoS ONE. 2020. Vol. 15, N 6. Art. e0233721. DOI: 10.1371/journal.pone.0233721.
23. Shen B., Schmidt M.A., Collet K.H., et al. RNAi and CRISPR-Cas silencing E3-RING ubiquitin ligase AIP2 enhances soybean seed protein content // Journal of Experimental Botany. 2022. Vol. 73, N 22. P. 7285–7297. DOI: 10.1093/jxb/erac376.
24. Yang R., Ma Y., Yang Z., et al. Knockdown of β-conglycinin α' and α subunits alters seed protein composition and improves salt tolerance in soybean // The Plant Journal. 2024. Vol. 120, N 4. P. 1488–1507. DOI: 10.1111/tpj.17062.
25. Fu M., Chen L., Cai Y., et al. CRISPR/Cas9-Mediated Mutagenesis of GmFAD2-1A and/or GmFAD2-1B to Create High-Oleic-Acid Soybean // Agronomy. 2022. Vol. 12, N 12. P. 3218. DOI: 10.3390/agronomy12123218.
26. Liao W., Guo R., Qian K., et al. The acyl-acyl carrier protein thioesterases GmFATA1 and GmFATA2 are essential for fatty acid accumulation and growth in soybean // The Plant Journal. 2024. Vol. 118, N 3. P. 823–838. DOI: 10.1111/tpj.16638.
27. Liao W., Guo R., Li J., et al. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of SEED FATTY ACID REDUCER genes significantly increased seed oil content in soybean // Plant and Cell Physiology. 2025. Vol. 66, N 2. P. 273–284. DOI: 10.1093/pcp/pcae148.
28. Wang J., Zhang L., Wang S. et al. AlphaFold-Guided Bespoke Gene Editing Enhances Field-Grown Soybean Oil Contents // Advanced Science (Weinh). 2025. Vol. 12, N 23. Art. 2500290. DOI: 10.1002/advs.202500290.
29. Cai Y., Wang L., Chen L., et al. Mutagenesis of GmFT2a and GmFT5a mediated by CRISPR/Cas9 contributes for expanding the regional adaptability of soybean // Plant Biotechnology Journal. 2020. Vol. 18, N 1. P. 298–309. DOI: 10.1111/pbi.13199.
30. Cai Z., Xian P., Cheng Y., et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing of GmJAGGED1 increased yield in the low-latitude soybean variety Huachun 6 // Plant Biotechnology Journal. 2021. Vol. 19, N 10. P. 1898–1900. DOI: 10.1111/pbi.13673.

31. Bao A., Chen H., Chen L., et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of GmSPL9 genes alters plant architecture in soybean // BMC Plant Biology. 2019. Vol. 19, N 1. P. 131. DOI: 10.1186/s12870-019-1746-6.
32. Gao Y., Zhang Y., Ma C., et al. Editing the nuclear localization signals of E1 and E1Lb enables the production of tropical soybean in temperate growing regions // Plant Biotechnology Journal. 2024. Vol. 22, N 8. P. 2145–2156. DOI: 10.1111/pbi.14335.
33. Cai Y., Chen L., Zhang Y., et al. Target base editing in soybean using a modified CRISPR/Cas9 system // Plant Biotechnology Journal. 2020. Vol. 18, N 10. P. 1996–1998. DOI: 10.1111/pbi.13386.
34. Su Q., Chen L., Cai Y. et al. The FLOWERING LOCUS T 5b positively regulates photoperiodic flowering and improves the geographical adaptation of soybean // Plant, Cell & Environment. 2024. Vol. 47, N 1. C. 246–258. DOI: 10.1111/pce.14739.
35. Usovsky M., Gamage V.A., Meinhardt C.G., et al. Loss-of-function of an α-SNAP gene confers resistance to soybean cyst nematode // Nature Communications. 2023. Vol. 14, N 1. P. 7629. DOI: 10.1038/s41467-023-43295-y.
36. Liu T., Ji J., Cheng Y., et al. CRISPR/Cas9-mediated editing of GmTAP1 confers enhanced resistance to Phytophthora sojae in soybean // Journal of Integrative Plant Biology. 2023. Vol. 65, N 7. P. 1609–1612. DOI: 10.1111/jipb.13476.
37. Souza R., Rouf Mian M.A., Vaughn J.N., et al. Introgression of a Danbaekkong high-protein allele across different genetic backgrounds in soybean // Frontiers in Plant Science. 2023. Vol. 14. P. 1308731. DOI: 10.3389/fpls.2023.1308731.
38. Jin M., Han J.Q., Zhang L.Y. et al. The miR172a-ERF416/413 module regulates soybean seed traits // Journal of Integrative Plant Biology. 2025. Vol. 67, N 11. P. 2999–3013. DOI: 10.1111/jipb.70015.
39. Ma J., Sun S., Whelan J., et al. CRISPR/Cas9-Mediated Knockout of GmFATB1 Significantly Reduced the Amount of Saturated Fatty Acids in Soybean Seeds // International Journal of Molecular Sciences. 2021. Vol. 22, N 8. P. 3877. DOI: 10.3390/ijms22083877.
40. Крупин П.Ю., Омельянюк Л.В., Самарина М.А., и др. Анализ аллельной структуры генов фотопериодизма E1–E4 в коллекции сои и ее влияния на сроки и продолжительность цветения в условиях Омской области // Российские нанотехнологии. 2024. Т. 19, № 6. С. 781–795. DOI: 10.56304/S1992722324602544.
41. Zheng N., Guo Y., Wang S., et al. Identification of E1-E4 allele combinations and ecological adaptability of soybean varieties from different geographical origins in China // Frontiers in Plant Science. 2023. Vol. 14. Art. 1222755. DOI: 10.3389/fpls.2023.1222755.
42. Sun Z., Su C., Yun J., et al. Genetic improvement of the shoot architecture and yield in soya bean plants via the manipulation of GmmiR156b // Plant Biotechnology Journal. 2019. Vol. 17, N 1. P. 50–62. DOI: 10.1111/pbi.12946.
43. Bao A., Chen H., Chen L. et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of GmSPL9 genes alters plant architecture in soybean // BMC Plant Biology. 2019. Vol. 19, N 1. P. 131. DOI: 10.1186/s12870-019-1746-6.
44. Liu B., Watanabe S., Uchiyama T., et al. The soybean stem growth habit gene Dt1 is an ortholog of Arabidopsis TERMINAL FLOWER1 // Plant Physiology. 2010. Vol. 153, N 1. P. 198–210. DOI: 10.1104/pp.109.150607.
45. Yao D., Zhou J., Zhang A., et al. Advances in CRISPR/Cas9-based research related to soybean [Glycine max (Linn.) Merr] molecular breeding // Frontiers in Plant Science. 2023. Vol. 14. Art. 1247707. DOI: 10.3389/fpls.2023.1247707.
46. Kumar R., Singh S., Gangwar L.K., et al. CRISPR/Cas: A precise and advanced tool for quality trait improvement in crops // Ecological Genetics and Genomics. 2025. Vol. 35. Art. 100346. DOI: 10.1016/j.egg.2025.100346.
47. Deng S., Zhang Y., Fang X., et al. Overexpression of GmSRC2 confers resistance to Phytophthora sojae in soybean // Plant Science. 2024. Vol. 349. P. 112247. DOI: 10.1016/j.plantsci.2024.112247.
48. Alzahrani Y. Evaluation of drought and salinity tolerance potentials of different soybean genotypes based upon physiological, biochemical, and genetic indicators // Frontiers in Plant Science. 2024. Vol. 15. Art. 1466363. DOI: 10.3389/fpls.2024.1466363.

49. Wu N., Feng Y., Jiang T., et al. Genome-wide study and expression analysis of soybean ERF transcription factors and overexpression of GmERF205 enhances drought resistance in soybean // BMC Genomics. 2025. Vol. 26, N 1. P. 726. DOI: 10.1186/s12864-025-11829-x.
50. Bortesi L., Fischer R. The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing and beyond // Biotechnology Advances. 2015.Vol. 33, N 1. C. 41–52. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.12.006.
51. Укратова Ю.В., Ерастенкова М.В., Коршикова Е.С., и др. Улучшение культурных растений при помощи системы CRISPR/Cas: новые гены-мишени // Молекулярная биология. 2023. Т. 57, № 3. С. 387–410. DOI: 10.31857/S0026898423030151.
52. Lu Y., Tian Y., Shen R., et al. Targeted, efficient sequence insertion and replacement in rice // Nature Biotechnology. 2020. Vol. 38, N 12. P. 1402–1407. DOI: 10.1038/s41587-020-0581-5.
53. Zhang Y., Qi Y. Diverse Systems for Efficient Sequence Insertion and Replacement in Precise Plant Genome Editing // Biodes Research. 2020. Vol. 2020. Art. 8659064. DOI: 10.34133/2020/8659064.
54. Freitas-Alves N.S., Moreira-Pinto C.E., Távora F.T.P.K., et al. CRISPR/Cas genome editing in soybean: challenges and new insights to overcome existing bottlenecks // Journal of Advanced Research. 2025. Vol. 73. P. 53–72. DOI: 10.1016/j.jare.2024.08.024.
55. Cai Y., Chen L., Liu X., et al. CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing in Soybean Hairy Roots // PLoS ONE. 2015. Vol. 10, N 8. Art. e0136064. DOI: 10.1371/journal.pone.0136064.
56. Михайлова Е.В., Хуснутдинов Э.А., Чемерис А.В., и др. Доступный арсенал систем CRISPR/CAS для геномного редактирования растений // Физиология растений. 2022. Т. 69, № 1. С. 38–53. DOI: 10.31857/S0015330322010134.
57. Carroll M.S., Giacca M. CRISPR activation and interference as investigative tools in the cardiovascular system // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2023. Vol. 155. Art. 106348. DOI: 10.1016/j.biocel.2022.106348.
58. Moradpour M., Abdulah S.N.A. CRISPR/dCas9 platforms in plants: strategies and applications beyond genome editing // Plant Biotechnology Journal. 2020. Vol. 18, N 1. P. 32–44. DOI: 10.1111/pbi.13232.
59. Tan W., Wang Z., Liu L. The Continuous Improvement of the Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR)–CRISPR-Associated Protein System Has Led to Its Highly Efficient Application in Plants // Agriculture. 2025. Vol. 15, N 1. P. 29. DOI: 10.3390/agriculture15010029.
60. Xu H., Guo Y., Qiu L., Ran Y. Progress in Soybean Genetic Transformation Over the Last Decade // Frontiers in Plant Science. 2022. Vol. 13. Art. 900318. DOI: 10.3389/fpls.2022.900318.
61. Saravanan K., Vidya N., Appunu C., et al. A simple and efficient genetic transformation system for soybean (Glycine max (L.) Merrill) targeting apical meristem of modified half-seed explant // 3 Biotech. 2023. Vol. 13, N 9. P. 293. DOI: 10.1007/s13205-023-03715-8.
62. Nesterov M.A., Kiseleva A.A., Timonova E.M., et al. Optimization of bioballistic parameters for transformation of common wheat Triticum aestivum L. line Velut // Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2024. Vol. 10, N 4. P. 224–230. DOI: 10.18699/letvjgb-2024-10-26.
63. Nakamura A., Yano T., Mitsuda N., et al. The sonication-assisted whisker method enables CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery to induce genome editing in rice // Scientific Reports. 2023. Vol. 13. Art. 14205. DOI: 10.1038/s41598-023-40433-w.
64. Kuwabara C., Miki R., Maruyama N., et al. A DNA-free and genotype-independent CRISPR/Cas9 system in soybean // Plant Physiology. 2024. Vol. 196, N 4. P. 2320–2329. DOI: 10.1093/plphys/kiae491.
65. Li S., Cong Y., Liu Y., et al. Optimization of Agrobacterium-Mediated Transformation in Soybean // Frontiers in Plant Science. 2017. Vol. 8. P. 246. DOI: 10.3389/fpls.2017.00246.
66. Homrich M.S., Wiebke-Strohm B., Weber R.L., et al. Soybean genetic transformation: A valuable tool for the functional study of genes and the production of agronomically improved plants // Genetics and Molecular Biology. 2012. Vol. 35, N 4. P. 998–1010. DOI: 10.1590/S1415-47572012000600015.
67. Xu H., Guo Y., Qiu L., et al. Progress in Soybean Genetic Transformation Over the Last Decade // Frontiers in Plant Science. 2022. Vol. 13. Art. 900318. DOI: 10.3389/fpls.2022.900318.

68. Thorpe C., Luo W., Ji Q., et al. Enhancing biolistic plant transformation and genome editing with a flow guiding barrel // Nature Communications. 2025. Vol. 16, N 1. P. 5624. DOI: 10.1038/s41467-025-60761-x.
69. Wu F., Hanzawa Y. A Simple Method for Isolation of Soybean Protoplasts and Application to Transient Gene Expression Analyses // Journal of Visualized Experiments. 2018. Vol. 131. Art. e57258. DOI: 10.3791/57258.
70. Subburaj S., Agapito-Tenfen S.Z. Establishment of targeted mutagenesis in soybean protoplasts using CRISPR/Cas9 RNP delivery via electro-transfection // Frontiers in Plant Science. 2023. Vol. 14. Art. 1255819. DOI: 10.3389/fpls.2023.1255819.
71. Paes de Melo B., Lourenço-Tessutti I.T., Morgante C.V., et al. Soybean Embryonic Axis Transformation: Combining Biolistic and Agrobacterium-Mediated Protocols to Overcome Typical Complications of In Vitro Plant Regeneration // Frontiers in Plant Science. 2020. Vol. 11. P. 1228. DOI: 10.3389/fpls.2020.01228.
72. Yavuz C., Dönmez B.A., Tekinsoy M., et al. Development of an efficient in vitro protocol to increase callus induction and regeneration rate in soybeans (*Glycine max* L. Merrill) // Vegetos. 2025. Online first. DOI: 10.1007/s42535-025-01211-3.
73. Крылова Е.А., Ефремова О.С., Вилис П.С., и др. Протокол получения трансформантов вигны *Vigna unguiculata* (L.) Walp. — носителей редактирующих конструкций // Биотехнология и селекция растений. 2025. Т. 8, № 2. С. 7–15. DOI: 10.30901/2658-6266-2025-2-o4.
74. Lin W., Bai M., Peng C., et al. Genome editing toward biofortified soybean with minimal trade-off between low phytic acid and yield // aBIOTECH. 2024. Vol. 5, N 2. P. 196–201. DOI: 10.1007/s42994-024-00158-4.
75. Nobusawa T., Yamatani H., Kusaba M. Promoter/enhancer replacement by genome editing for crop improvement // Trends in Plant Science. 2025. Vol. 31. P. 273–281. DOI: 10.1016/j.tplants.2025.10.016.
76. Bradbury A., Clapp O., Biacsi A.S., et al. Integrating genome editing with omics, artificial intelligence, and advanced farming technologies to increase crop productivity // Plant Communications. 2025. Vol. 6, N 7. Art. 101386. DOI: 10.1016/j.xplc.2025.101386.
77. Jubair S., Domaratzki M. Crop genomic selection with deep learning and environmental data: A survey // Frontiers in Artificial Intelligence. 2023. Vol. 5. Art. 1040295. DOI: 10.3389/frai.2022.1040295.
78. Редникова Т.В. Правовое регулирование применения геномных технологий в сельском хозяйстве: эволюция подходов в зарубежном праве // Политика и Общество. 2025. № 4. С. 21–34. DOI: 10.7256/2454-0684.2025.4.76159.

References

1. Nerkar G, Thorat A, Sheelavantmath S, et al. Genetic transformation of sugarcane and field performance of transgenic sugarcane. In: Gosal SS, Wani SH, eds. *Biotechnologies of Crop Improvement*. Vol 2. Springer Nature; 2018. P. 163–185. DOI: 10.1007/978-3-319-90650-8_9.
2. Rahman SU, McCoy E, Raza G, et al. Improvement of soybean; a way forward transition from genetic engineering to new plant breeding technologies. *Mol Biotechnol*. 2023;65(2):162-180. DOI: 10.1007/s12033-022-00456-6.
3. Bélanger JG, Copley TR, Hoyos-Villegas V, et al. A comprehensive review of in planta stable transformation strategies. *Plant Methods*. 2024;20(1):79. DOI: 10.1186/s13007-024-01200-8.
4. Smith J, Grizot S, Arnould S, et al. A combinatorial approach to create artificial homing endonucleases cleaving chosen sequences. *Nucleic Acids Res*. 2006;34(22):e149. DOI: 10.1093/nar/gkl720.
5. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 2012;337(6096):816-821. DOI: 10.1126/science.1225829.
6. Thierry A, Dujon B. Nested chromosomal fragmentation in yeast using the meganuclease I-Sce I: a new method for physical mapping of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Res*. 1992;20(22):5625-5631.

7. Chiurazzi M, Ray A, Viret JF, et al. Enhancement of somatic intrachromosomal homologous recombination in Arabidopsis by the HO endonuclease. *Plant Cell*. 1996;8(11):2057-2066.
8. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, et al. LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science*. 2003;302(5644):415-419. DOI: 10.1126/ science.1088547.
9. Carroll D. Genome engineering with zinc-finger nucleases. Genetics. 2011;188(4):773-82. DOI: 10.1534/genetics.111.131433. PMID: 21828278; PMCID: PMC3176093.
10. Khan Z, Khan S, Mubarik M, et al. Use of TALEs and TALEN technology for genetic improvement of plants. *Plant Mol Biol Rep*. 2017;35(1):1-19. DOI: 10.1007/s11105-016-0997-8.
11. Li T, Huang S, Jiang WZ, et al. TAL nucleases (TALNs): hybrid proteins composed of TAL effectors and FokI DNA-cleavage domain. *Nucleic Acids Res*. 2011;39(1):359-372. DOI: 10.1093/nar/gkq704.
12. Zhao H, Wolt JD. Risk associated with off-target plant genome editing and methods for its limitation. *Emerg Top Life Sci*. 2017;1(2):231-240.
13. González Castro N, Bjelic J, Malhotra G, et al. Comparison of the feasibility, efficiency, and safety of genome editing technologies. *Int J Mol Sci*. 2021;22(19):10355. DOI: 10.3390/ijms221910355.
14. Charpentier E, Richter H, van der Oost J, White MF. Biogenesis pathways of RNA guides in archaeal and bacterial CRISPR-Cas adaptive immunity. *FEMS Microbiol Rev*. 2015;39(3):428-441. DOI: 10.1093/femsre/fuv023.
15. Kumar K, Gambhir G, Dass A, et al. Genetically modified crops: current status and future prospects. *Planta*. 2020;251(4):91. DOI: 10.1007/s00425-020-03372-8.
16. Makarova KS, Haft DH, Barrangou R, et al. Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol*. 2011;9(6):467-477. DOI: 10.1038/nrmicro2577.
17. Shamshirgaran Y, Liu J, Sumer H, et al. Tools for efficient genome editing; ZFN, TALEN, and CRISPR. In: Verma PJ, Sumer H, Liu J, eds. *Applications of Genome Modulation and Editing*. Methods Mol Biol. Vol. 2495. Humana; 2022. P. 29–48. DOI: 10.1007/978-1-0716-2301-5_2.
18. Mishra S, Nayak S, Tuteja N, et al. CRISPR/Cas-mediated genome engineering in plants: application and prospectives. *Plants*. 2024;13(14):1884. DOI: 10.3390/plants13141884.
19. McCabe DE, Swain WF, Martinell BJ, Christou P. Stable transformation of soybean (*Glycine max*) by particle acceleration. *BioTechnology*. 1988;6:923-926.
20. Hinchee M, Connor-Ward D, Newell CA, et al. Production of transgenic soybean plants using Agrobacterium-mediated DNA transfer. *BioTechnology*. 1988;6:915-922.
21. Wang L, O'Conner S, Tanvir R, et al. CRISPR/Cas9-based editing of NF-YC4 promoters yields high-protein rice and soybean. *New Phytol*. 2025;245(5):2103-2116. DOI: 10.1111/nph.20141.
22. Jones SI, Hunt MR, Vodkin LO. An embryo lethal transgenic line manifests global expression changes and elevated protein/oil ratios in heterozygous soybean plants. *PLoS One*. 2020;15(6):e0233721. DOI: 10.1371/journal.pone.0233721.
23. Shen B, Schmidt MA, Collet KH, et al. RNAi and CRISPR-Cas silencing E3-RING ubiquitin ligase AIP2 enhances soybean seed protein content. *J Exp Bot*. 2022;73(22):7285-7297. DOI: 10.1093/jxb/erac376.
24. Yang R, Ma Y, Yang Z, et al. Knockdown of β-conglycinin α' and α subunits alters seed protein composition and improves salt tolerance in soybean. *Plant J*. 2024;120(4):1488-1507. DOI: 10.1111/tpj.17062.
25. Fu M, Chen L, Cai Y, et al. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of GmFAD2-1A and/or GmFAD2-1B to create high-oleic-acid soybean. *Agronomy*. 2022;12(12):3218. DOI: 10.3390/agronomy12123218.
26. Liao W, Guo R, Qian K, et al. The acyl-acyl carrier protein thioesterases GmFATA1 and GmFATA2 are essential for fatty acid accumulation and growth in soybean. *Plant J*. 2024;118(3):823-838. DOI: 10.1111/tpj.16638.
27. Liao W, Guo R, Li J, et al. CRISPR/Cas9-mediated mutagenesis of SEED FATTY ACID REDUCER genes significantly increased seed oil content in soybean. *Plant Cell Physiol*. 2025;66(2):273-284. DOI: 10.1093/pcp/pcae148.
28. Wang J, Zhang L, Wang S, et al. AlphaFold-guided bespoke gene editing enhances field-grown soybean oil contents. *Adv Sci (Weinh)*. 2025;12(23):2500290. DOI: 10.1002/advs.202500290.

29. Cai Y, Wang L, Chen L, et al. Mutagenesis of GmFT2a and GmFT5a mediated by CRISPR/Cas9 contributes for expanding the regional adaptability of soybean. *Plant Biotechnol J*. 2020;18(1):298-309. DOI: 10.1111/pbi.13199.
30. Cai Z, Xian P, Cheng Y, et al. CRISPR/Cas9-mediated gene editing of GmJAGGED1 increased yield in the low-latitude soybean variety Huachun 6. *Plant Biotechnol J*. 2021;19(10):1898-1900. DOI: 10.1111/pbi.13673.
31. Bao A, Chen H, Chen L, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of GmSPL9 genes alters plant architecture in soybean. *BMC Plant Biol*. 2019;19(1):131. DOI: 10.1186/s12870-019-1746-6.
32. Gao Y, Zhang Y, Ma C, et al. Editing the nuclear localization signals of E1 and E1Lb enables the production of tropical soybean in temperate growing regions. *Plant Biotechnol J*. 2024;22(8):2145-2156. DOI: 10.1111/pbi.14335.
33. Cai Y, Chen L, Zhang Y, et al. Target base editing in soybean using a modified CRISPR/Cas9 system. *Plant Biotechnol J*. 2020;18(10):1996-1998. DOI: 10.1111/pbi.13386.
34. Su Q, Chen L, Cai Y, et al. The FLOWERING LOCUS T 5b positively regulates photoperiodic flowering and improves the geographical adaptation of soybean. *Plant Cell Environ*. 2024;47(1):246-258. DOI: 10.1111/pce.14739.
35. Usovsky M, Gamage VA, Meinhardt CG, et al. Loss-of-function of an α-SNAP gene confers resistance to soybean cyst nematode. *Nat Commun*. 2023;14(1):7629. DOI: 10.1038/s41467-023-43295-y.
36. Liu T, Ji J, Cheng Y, et al. CRISPR/Cas9-mediated editing of GmTAP1 confers enhanced resistance to Phytophthora sojae in soybean. *J Integr Plant Biol*. 2023;65(7):1609-1612. DOI: 10.1111/jipb.13476.
37. Souza R, Rouf Mian MA, Vaughn JN, Li Z. Introgression of a Danbaekkong high-protein allele across different genetic backgrounds in soybean. *Front Plant Sci*. 2023;14:1308731. DOI: 10.3389/fpls.2023.1308731.
38. Jin M, Han JQ, Zhang LY, et al. The miR172a-ERF416/413 module regulates soybean seed traits. *J Integr Plant Biol*. 2025;67(11):2999-3013. DOI: 10.1111/jipb.70015.
39. Ma J, Sun S, Whelan J, et al. CRISPR/Cas9-mediated knockout of GmFATB1 significantly reduced the amount of saturated fatty acids in soybean seeds. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8):3877. DOI: 10.3390/ijms22083877.
40. Krupin PY, Omel'janiuk LV, Samarina MA, et al. Analiz allel'noj struktury genov fotoperiodizma E1–E4 v kollekcii soi i ee vliyanija na sroki i prodolzhitel'nost' cvetenija v uslovijah Omskoj oblasti. *Rossijskie Nanotehnologii*. 2024;19(6):781-795. (In Russ.). DOI: 10.56304/S1992722324602544.
41. Zheng N, Guo Y, Wang S, et al. Identification of E1-E4 allele combinations and ecological adaptability of soybean varieties from different geographical origins in China. *Front Plant Sci*. 2023;14:1222755. DOI: 10.3389/fpls.2023.1222755.
42. Sun Z, Su C, Yun J, et al. Genetic improvement of the shoot architecture and yield in soya bean plants via the manipulation of GmmiR156b. *Plant Biotechnol J*. 2019;17(1):50-62. DOI: 10.1111/pbi.12946.
43. Bao A, Chen H, Chen L, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of GmSPL9 genes alters plant architecture in soybean. *BMC Plant Biol*. 2019;19(1):131. DOI: 10.1186/s12870-019-1746-6.
44. Liu B, Watanabe S, Uchiyama T, et al. The soybean stem growth habit gene Dt1 is an ortholog of Arabidopsis TERMINAL FLOWER1. *Plant Physiol*. 2010;153(1):198-210. DOI: 10.1104/pp.109.150607.
45. Yao D, Zhou J, Zhang A, et al. Advances in CRISPR/Cas9-based research related to soybean [*Glycine max* (Linn.) Merr] molecular breeding. *Front Plant Sci*. 2023;14:1247707. DOI: 10.3389/fpls.2023.1247707.
46. Kumar R, Singh S, Gangwar LK, et al. CRISPR/Cas: A precise and advanced tool for quality trait improvement in crops. *Ecol Genet Genomics*. 2025;35:100346. DOI: 10.1016/j.egg.2025.100346.
47. Deng S, Zhang Y, Fang X, et al. Overexpression of GmSRC2 confers resistance to Phytophthora sojae in soybean. *Plant Sci*. 2024;349:112247. DOI: 10.1016/j.plantsci.2024.112247.

48. Alzahrani Y. Evaluation of drought and salinity tolerance potentials of different soybean genotypes based upon physiological, biochemical, and genetic indicators. *Front Plant Sci*. 2024;15:1466363. DOI: 10.3389/fpls.2024.1466363.
49. Wu N, Feng Y, Jiang T, et al. Genome-wide study and expression analysis of soybean ERF transcription factors and overexpression of GmERF205 enhances drought resistance in soybean. *BMC Genomics*. 2025;26(1):726. DOI: 10.1186/s12864-025-11829-x.
50. Bortesi L, Fischer R. The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing and beyond. *Biotechnol Adv*. 2015;33(1):41-52. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2014.12.006.
51. Ukratova YV, Erastenkova MV, Korshikova ES, et al. Uluchshenie kul'turnyh rastenij pri pomoshhi sistemy CRISPR/Cas: novye geny-misheni. *Molekuljarnaja Biologija*. 2023;57(3):387-410. (In Russ.). DOI: 10.31857/S0026898423030151.
52. Lu Y, Tian Y, Shen R, et al. Targeted, efficient sequence insertion and replacement in rice. *Nat Biotechnol*. 2020;38(12):1402-1407. DOI: 10.1038/s41587-020-0581-5.
53. Zhang Y, Qi Y. Diverse systems for efficient sequence insertion and replacement in precise plant genome editing. *Biodes Res*. 2020;2020:8659064. DOI: 10.34133/2020/8659064.
54. Freitas-Alves NS, Moreira-Pinto CE, Távora FTPK, et al. CRISPR/Cas genome editing in soybean: challenges and new insights to overcome existing bottlenecks. *J Adv Res*. 2025;73:53-72. DOI: 10.1016/j.jare.2024.08.024.
55. Cai Y, Chen L, Liu X, et al. CRISPR/Cas9-mediated genome editing in soybean hairy roots. *PLoS One*. 2015;10(8):e0136064. DOI: 10.1371/journal.pone.0136064.
56. Mihajlova EV, Husnutdinov JeA, Chemeris AV, Kuluev BR. Dostupnyj arsenal sistem CRISPR/CAS dlja genomnogo redaktirovanija rastenij. *Fiziologija Rastenij*. 2022;69(1):38-53. (In Russ.). DOI: 10.31857/S0015330322010134.
57. Carroll MS, Giacca M. CRISPR activation and interference as investigative tools in the cardiovascular system. *Int J Biochem Cell Biol*. 2023;155:106348. DOI: 10.1016/j.biocel.2022.106348.
58. Moradpour M, Abdulah SNA. CRISPR/dCas9 platforms in plants: strategies and applications beyond genome editing. *Plant Biotechnol J*. 2020;18(1):32-44. DOI: 10.1111/pbi.13232.
59. Tan W, Wang Z, Liu L. The continuous improvement of the clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)–CRISPR-associated protein system has led to its highly efficient application in plants. *Agriculture*. 2025;15(1):29. DOI: 10.3390/agriculture15010029.
60. Xu H, Guo Y, Qiu L, Ran Y. Progress in soybean genetic transformation over the last decade. *Front Plant Sci*. 2022;13:900318. DOI: 10.3389/fpls.2022.900318.
61. Saravanan K, Vidya N, Appunu C, et al. A simple and efficient genetic transformation system for soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) targeting apical meristem of modified half-seed explant. *3 Biotech*. 2023;13(9):293. DOI: 10.1007/s13205-023-03715-8.
62. Nesterov MA, Kiseleva AA, Timonova EM, et al. Optimization of bioballistic parameters for transformation of common wheat Triticum aestivum L. line Velut. *Pisma v Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii = Letters to Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;10(4):224-230. (In Russ.). DOI: 10.18699/letvjgb-2024-10-26.
63. Nakamura A, Yano T, Mitsuda N, et al. The sonication-assisted whisker method enables CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery to induce genome editing in rice. *Sci Rep*. 2023;13:14205. DOI: 10.1038/s41598-023-40433-w.
64. Kuwabara C, Miki R, Maruyama N, et al. A DNA-free and genotype-independent CRISPR/Cas9 system in soybean. *Plant Physiol*. 2024;196(4):2320-2329. DOI: 10.1093/plphys/kiae491.
65. Li S, Cong Y, Liu Y, et al. Optimization of Agrobacterium-mediated transformation in soybean. *Front Plant Sci*. 2017;8:246. DOI: 10.3389/fpls.2017.00246.
66. Homrich MS, Wiebke-Strohm B, Weber RL, Bodanese-Zanettini MH. Soybean genetic transformation: a valuable tool for the functional study of genes and the production of agronomically improved plants. *Genet Mol Biol*. 2012;35(4 Suppl):998-1010. DOI: 10.1590/S1415-47572012000600015.
67. Xu H, Guo Y, Qiu L, Ran Y. Progress in Soybean Genetic Transformation Over the Last Decade. *Front Plant Sci*. 2022;13:900318. DOI: 10.3389/fpls.2022.900318.

68. Thorpe C, Luo W, Ji Q, et al. Enhancing biolistic plant transformation and genome editing with a flow guiding barrel. *Nat Commun*. 2025;16(1):5624. DOI: 10.1038/s41467-025-60761-x.
69. Wu F, Hanzawa Y. A simple method for isolation of soybean protoplasts and application to transient gene expression analyses. *J Vis Exp*. 2018;(131):e57258. DOI: 10.3791/57258.
70. Subburaj S, Agapito-Tenfen SZ. Establishment of targeted mutagenesis in soybean protoplasts using CRISPR/Cas9 RNP delivery via electro-transfection. *Front Plant Sci*. 2023;14:1255819. DOI: 10.3389/fpls.2023.1255819.
71. Paes de Melo B, Lourenço-Tessutti IT, Morgante CV, et al. Soybean embryonic axis transformation: combining biolistic and Agrobacterium-mediated protocols to overcome typical complications of in vitro plant regeneration. *Front Plant Sci*. 2020;11:1228. DOI: 10.3389/fpls.2020.01228.
72. Yavuz C, Dönmez BA, Tekinsoy M, et al. Development of an efficient in vitro protocol to increase callus induction and regeneration rate in soybeans (Glycine max L. Merrill). *Vegetos*. 2025:Online first. DOI: 10.1007/s42535-025-01211-3.
73. Krylova EA, Efremova OS, Vilis PS, et al. Protokol poluchenija transformantov vigny Vigna unguiculata (L.) Walp. — nositelej redaktirujushhih konstrukcij. *Biotekhnologija i Selekcja Rastenij*. 2025;8(2):7-15. (In Russ.). DOI: 10.30901/2658-6266-2025-2-o4.
74. Lin W, Bai M, Peng C, et al. Genome editing toward biofortified soybean with minimal trade-off between low phytic acid and yield. *aBIOTECH*. 2024;5(2):196-201. DOI: 10.1007/s42994-024-00158-4.
75. Nobusawa T, Yamatani H, Kusaba M. Promoter/enhancer replacement by genome editing for crop improvement. *Trends Plant Sci*. 2025;31:273-281. DOI: 10.1016/j.tplants.2025.10.016 .
76. Bradbury A, Clapp O, Biacsi AS, et al. Integrating genome editing with omics, artificial intelligence, and advanced farming technologies to increase crop productivity. *Plant Commun*. 2025;6(7):101386. DOI: 10.1016/j.xplc.2025.101386.
77. Jubair S, Domaratzki M. Crop genomic selection with deep learning and environmental data: a survey. *Front Artif Intell*. 2023;5:1040295. DOI: 10.3389/frai.2022.1040295.
78. Rednikova TV. Pravovoe regulirovanie primenenija genomnyh tehnologij v sel'skom hozjajstve: jevoljucija podhodov v zarubezhnom prave. *Politika i Obshhestvo*. 2025;(4):21-34. (In Russ.). DOI: 10.7256/2454-0684.2025.4.76159.

Статья принята к публикации 08.05.2026 / The article accepted for publication 08.05.2026

Информация об авторах:

Павел Дмитриевич Тимкин, младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии
Полина Михайловна Линская, лаборант лаборатории биотехнологии
Андрей Андреевич Пензин, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией биотехнологии, кандидат сельскохозяйственных наук

Information about the authors:

Pavel Dmitrievich Timkin, Junior Researcher, Biotechnology Laboratory
Polina Mikhailovna Linskaya, Laboratory Assistant, Biotechnology Laboratory
Andrei Andreevich Penzin, Leading Researcher, Head of the Biotechnology Laboratory, Candidate of Agricultural Sciences