

••• ФІЗИОЛОГІЯ РОСЛИН ••• PLANT PHYSIOLOGY •••

УДК: 581.143.6:633.853.52

Особенности каллусогенеза образцов сои *Glycine max* (L.) Merr. с различной фотопериодической реакцией О.А.Авксентьева, М.С.Васильченко

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
avksentyeva@univer.kharkov.ua

В работе представлены результаты исследования частоты первичного каллусогенеза различных эксплантов, ростовой реакции, морфологическая характеристика каллусных первичных и пересадочных культур образцов сои с различной фотопериодической чувствительностью. Показано, что короткодневные образцы сои эффективнее вводятся в культуру *in vitro*, а их каллусные ткани характеризуются более интенсивным ростом по сравнению с каллусами фотопериодически нечувствительных растений. Предполагается, что гены созревания сои, определяющие фотопериодическую чувствительность растений *in vivo*, участвуют в преддетерминации процессов каллусогенеза в условиях *in vitro*.

Ключевые слова: соя (*Glycine max* (L.) Merr.), каллусогенез, изогенные линии, E-гены, культура *in vitro*, фотопериодическая реакция.

Особливості калусогенезу зразків сої *Glycine max* (L.) Merr. з різною фотоперіодичною реакцією О.А.Авксентьева, М.С.Васильченко

У роботі представлені результати дослідження частоти первинного калусогенезу різних експлантів, ростової реакції та морфологічна характеристика калусних первинних і пересадкових культур зразків сої з різною фотоперіодичною чутливістю. Показано, що короткоденні зразки сої ефективніше вводяться в культуру *in vitro*, а їх калусні тканини характеризуються більш інтенсивним ростом в порівнянні з калусами фотоперіодично нечутливих рослин. Передбачається, що гени дозрівання сої, що визначають фотоперіодичну чутливість рослин *in vivo*, беруть участь у преддетермінації процесів калусогенезу в умовах *in vitro*.

Ключові слова: соя (*Glycine max* (L.) Merr.), калусогенез, ізогенні лінії, E-гени, культура *in vitro*, фотоперіодична реакція.

Features of callusogenesis of soybean *Glycine max* (L.) Merr. samples with different photoperiodic response O.A.Avksentyeva, M.S.Vasilchenko

The paper presents the results of a study of the frequency of primary callus formation of different explants, growth response and morphological characteristics of callus primary and passaged cultures of soybean samples with different photoperiodic sensitivity. It has been showed that short-day soybean samples are more efficiently introduced into the culture *in vitro*, and their callus tissues are characterized by more intensive growth compared to callus of photoperiodic insensitive plants. It is assumed that the genes of soybean maturing controlling photoperiodic sensitivity of plants *in vivo* are involved in processes of predetermination of callus formation in conditions *in vitro*.

Key words: soybean (*Glycine max* (L.) Merr.), callus formation, isogenic lines, E-genes, culture *in vitro*, photoperiodic response.

Введение

Изучение природы фотопериодической реакции растений является одной из фундаментальных проблем современной физиологии, имеющей непосредственный практический выход (Jackson, 2009). Соя культурная – *Glycine max* (L.) Merr. – важнейшая, широко распространенная в мире и на Украине сельскохозяйственная культура – эволюционно является типичным растением короткого дня

с сильной фотопериодической чувствительностью (Баранов, Луколица, 2005). Современные многочисленные сорта и линии сои, созданные в ходе селекционной работы, представлены короткодневными (КДР) и фотопериодически нейтральными (ФПН) образцами (Жмурко и др., 2011; Liu, Abe, 2010). Известно, что генетическая регуляция фотопериодической реакции растений сои осуществляется системой генов *EE* (early maturity), детерминирующей также скорость созревания бобов, продолжительность вегетации, фитохромную регуляцию и др. признаки (Ellis et al., 2000; Palliconda, 2006). В современной научной литературе представлены сведения о восьми чувствительных к фотопериоду локусах системы генов *EE*, контролирующих переход к цветению и созреванию у *Glycine max* (L.) Merr.: E1, E2 (Bernard, 1971), E3 (Buzzell, 1971), E4 (Buzzell, Voldeng, 1980), E5 (McBlain, Bernard, 1987), E6 (Bonato, Vello, 1999), E7 (Cober, Voldeng, 2001a) и J (Ray et al., 1995). Для изучения влияния генов созревания на различные процессы удобной и широко используемой моделью являются почти изогенные линии (NILs – near isogenic lines), созданные на основе сортов Clark и Harosoy. На данных изолиниях проведены исследования эффектов генов созревания на различные физиолого-биохимические, фенологические и агрономические показатели растений сои (Юхно, Жмурко, 2010; Upadhyay et al., 1994; Curtis et al., 2000; Cober, Voldeng, 2001b).

В настоящее время для изучения фундаментальных проблем биологии растений, включая вопросы физиологии, генетики, роста и развития, в том числе фотопериодической реакции растений, широко используются культуры *in vitro*. Соя – *Glycine max* (L.) Merr. – легко вводится в культуру *in vitro*, и в современных научных исследованиях каллусные культуры сои используют для изучения различных вопросов физиологии и биотехнологии растений: изучения устойчивости к NaCl (Liu, van Staden, 2000, 2001), метаболизма фитогормонов (Швецов, Еникеев, 2009), синтеза изофлавоидов – фитоэстрогенов (Federicia et al., 2003), накопления под влиянием ультразвука ценного растительного белка, сбалансированного по аминокислотному составу (Ламберова, Косолапова, 2008), проявления морфогенного потенциала в зависимости от состава среды культивирования (Сидорчук и др., 1999; Shetty et al., 1992), воздействия света (Fomenko, Malyushm, 2006) и т.д.

Однако в современной литературе отсутствуют сведения об использовании каллусных культур сои при изучении генетической природы фотопериодической реакции. Мы предположили, что поскольку дедифференцированные клетки каллусных культур, наряду с приобретением новых свойств, сохраняют в культуре *in vitro* ряд признаков, характерных для растения *in vivo*, то возможно, что детерминированные генами *EE* различия в темпах развития растений сои *in vivo* будут также проявляться и в условиях *in vitro*.

Целью данной работы было исследование возможной роли серии *E*-генов (early maturity genes) в детерминации индукции первичного калусогенеза, а также ростовых показателей пересадочной каллусной культуры у различных по фотопериодической реакции образцов сои.

Методика

Исследования проводили на генетической модели, представленной шестью образцами сои, контрастными по фотопериодической реакции – короткодневными и фотопериодически нейтральными. Данная модель включала два сорта сои *Glycine max* (L.) Merr.: фотопериодически нейтральный сорт Бравелла и короткодневный сорт ВИР 1746 с неизвестным генотипом, но четко выраженной фотопериодической чувствительностью. Также использовали изогенные моногеннодоминантные по генам *EE* линии из коллекции кафедры физиологии и биохимии растений Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина – фотопериодически нейтральная IR 907, генотип *e1e2e3*, и короткодневная IR 903, генотип *E1E2E3*, и изогенные линии Центра генетических ресурсов Украины – L 71-920, генотип *e1e2e3E4e5E7*, и L 65-3366, генотип *E1E2E3E4e5E7*, созданные в генофоне сорта Clark, также контрастные по фотопериодической реакции.

Объектом исследований служили первичная и пересадочная каллусная культура сортов и изолиний сои. Введение в культуру *in vitro* осуществляли через стадию асептических проростков (Авксентьева, Петренко, 2011), которые выращивали на среде Шенка-Хильдербранта без стимуляторов роста, содержащей витамины B1 и PP – 5 мг/л, B6 – 0,5 мг/л, мезо-инозит 1 г/л, сахарозу 30 г/л и агар-агар 7 г/л, в течение 10 суток в отдельных пробирках на свету (освещенность 1,5 клк) при температуре 26°C. Затем, для получения первичного каллуса, экспланты асептических проростков пассировали на среду Мурасиге и Скуга, содержащую 10 мг/л стимулятора роста 2,4-Д, в чашки Петри и термостатировали при температуре 26°C в темноте. Использовали три

типа эксплантов: сегменты семядольных листочков (10 мм × 15 мм), участки гипокотилей (длина 1–1,5 см) и отрезки корней (длина 1 см). Пересадочную каллусную культуру получали, пассируя первичный каллус в возрасте 4–5 недель на твердую питательную среду Мурасиге и Скуга, содержащую 2 мг/л 2,4-Д, также культивируя каллусы в термостате при температуре 26°C.

В ходе экспериментов определяли частоту каллусогенеза (Носов, 2011) первичной каллусной культуры при использовании трех типов эксплантов – семядолей, гипокотилей и корней, проводили морфофизиологическую характеристику первичных и пересадочных каллусных культур, учитывали ростовую реакцию передочных каллусных культур исследуемых образцов сои. Для учета ростовой реакции проводили определение площади каллусов с помощью программы PhotoM, проводя измерения каждую неделю на протяжении месяца культивирования. Параллельно определяли количество клеток в каллусной ткани по методу Брауна после мацерации в течение 5 минут в 10% H₂SO₄ (Калинин и др., 1980), также на протяжении месяца культивирования.

Анализ ростовой реакции проводили, рассчитывая скорость роста каллусной культуры и ростовой индекс (Носов, 2011). Всего проведено 2 биологические серии экспериментов, каждый образец сои был представлен не менее чем 3–5 чашками Петри по 5–7 эксплантов в каждой. Полученные данные обработаны статистически методом попарного сравнения с использованием программы Excel 2007.

Результаты и обсуждение

Анализ зависимости скорости каллусогенеза от типа экспланта показал следующую общую закономерность (табл. 1). Для всех исследованных сортов и линий сои наиболее быстро протекал каллусогенез, когда в качестве эксплантов использовали семядоли. В течение 7 суток культивирования число эксплантов, образовавших каллусы, составляло 80–100 %, а на 14-е сутки культивирования все экспланты образовали каллусы (табл. 1).

Таблица 1.
Частота каллусогенеза сортов и линий сои в зависимости от типа экспланта и продолжительности культивирования

Сорт, изолиния	Фотопериодическая реакция	Продолжительность культивирования, сутки				
		7	14	21	28	35
Количество каллусов, %						
Экспланты семядолей						
ВИР 1746	Короткодневная	100,0±2,0*				100,0±2,0
Bravella	Нейтральная					100,0±2,1
IR 903	Короткодневная	93,4±2,1*				100,0±2,0
IR 907	Нейтральная	90,0±1,9				100,0±2,0
L 65-3366	Короткодневная	100,0±2,4*				100,0±2,4
L 71-920	Нейтральная	95,0±2,2				100,0±2,0
Экспланты гипокотилей						
ВИР 1746	Короткодневная	58,4±1,9*	98,3±1,8*			100,0±1,5
Bravella	Нейтральная	45,4±2,2	96,7±1,4			100,0±2,0
IR 903	Короткодневная	44,8±2,1*	92,5±1,1*			100,0±2,2
IR 907	Нейтральная	34,0±2,9	91,5±1,5			100,0±2,0
L 65-3366	Короткодневная	59,7±1,9*	100,0±1,7*			100,0±1,7
L 71-920	Нейтральная	58,5±1,8	97,3±1,4			100,0±2,0
Экспланты корешков						
ВИР 1746	Короткодневная	30,8±1,5*	52,3±1,9*	71,0±1,5*	78,0±1,9*	82,5±2,0*
Bravella	Нейтральная	13,8±0,5	32,5±1,2	59,8±1,5	70,5±1,7	78,0±1,9
IR 903	Короткодневная	27,5±1,3*	62,3±2,1*	84,0±1,5*	98,3±2,3*	100±2,1*
IR 907	Нейтральная	25,0±1,4	47,5±1,9	68,8±1,5	97,5±2,1	100±2,0
L 65-3366	Короткодневная	37,5±1,8*	52,8±2,0*	73,5±1,5*	100±2,5*	100±2,5
L 71-920	Нейтральная	34,5±1,2	43,8±2,0	64,5±1,5	97,5±1,0	100±2,0

Примечание: * – различия по частоте каллусогенеза между короткодневными и фотопериодически нейтральными сортами и изолиниями существенны при P≤0,05.

Более низкой была частота калусогенеза эксплантов из гипокотилей. Так, на седьмые сутки культивирования эффективность калусогенеза составляла 34–59 %, на 14 сутки уже 91–100 %, а через 21 сутки культивирования все экспланты образовали каллус.

Наиболее медленно образование первичных каллусов происходило из отрезков корешков асептических проростков – общая его продолжительность составляла 28–35 суток (табл. 1). На 7-е сутки частота калусогенеза составляла 13–37 %, на 14-е сутки – 32–62 %, на 21-е – 59–84 %, 28-е – 70–100 %, 35-е – 78–100 %. Таким образом, скорость первичного калусогенеза зависит от типа экспланта проростка, из которого получен каллус.

По нашему мнению, различия в скорости формирования каллусов из разных эксплантов связаны с разным уровнем пластического и энергетического материала. Так, в семядолях сконцентрирован запас питательных веществ, который необходим и достаточен для формирования проростка. Гипокотили проростков – транспортное русло, по которому пластический и энергетический материал поступает в корешок. Его формирование, по сути, зависит от скорости и количества поступления этого материала из семядолей. Следовательно, градиент содержания питательных веществ в органах проростка, использованных в качестве эксплантов, следующий – семядоли < гипокотили < корешки. Поскольку все экспланты культивировали на питательных средах одного и того же состава, то решающим фактором скорости протекания калусогенеза является уровень питательных веществ в эксплантах.



Рис. 1. Первичные каллусы сои *Glycine max* (L.) Merr., сформированные из различных эксплантов

Примечания: А – каллус из фрагментов зеленых семядолей; Б – каллус из отрезков гипокотилей; В – ризогенный первичный каллус из семядольных эксплантов (масштаб: А, Б, В – 1 см)

Несмотря на описанную общую закономерность скорости протекания калусогенеза для исследованных сортов и линий, проявлялись различия между ними по характеру этого процесса. Так, у короткодневного сорта ВІР 1746 и короткодневных изогенных линий ІR903 и L 65-3366, как правило, интенсивность образования каллусов из всех типов эксплантов была более высокой, чем у фотопериодически нейтрального сорта Bravella и фотопериодически нейтральных линий ІR 907 и L71-

920. Наиболее четко зависимость частоты каллусогенеза от типа фотопериодической реакции (генотипа) сортов и линий проявлялась, когда в качестве экспланта использовали корешки (табл. 1). Эти результаты дают основание предположить, что интенсивность каллусогенеза связана с типом фотопериодической реакции исследованных сортов и линий и, вероятно, детерминирована генами *E*-серии, которые определяют фотопериодическую чувствительность сои.

В ходе исследований нами определены морфологические показатели каллусов, сформировавшихся из различных эксплантов проростков исследованных сортов и изогенных по генам *EE* линий сои.

На рис. 1 А приведен общий вид каллусов, полученных из семядолей. При использовании семядолей в качестве экспланта формировался очень быстрорастущий слегка желтоватый, прозрачный, достаточно оводненный каллус. При этом длительное время сохранялась фотосинтезирующая способность эксплантов – зеленых семядолей. Кроме того, нами было отмечено достаточно частое проявление спонтанного ризогенеза (рис. 1 В), что может свидетельствовать о высоком уровне эндо- и экзогенных ауксинов.

Каллусные ткани, сформированные из отрезков гипокотилей (рис. 1 Б), характеризовались более плотной глобулярной структурой, медленным ростом, желтовато-беловатым цветом, как и каллусы из семядолей, но спонтанный ризогенез каллусов из этого типа эксплантов проявлялся значительно реже, чем каллусов из семядолей.

Первичный каллус, образовавшийся из отрезков корней, формировался значительно медленнее, чем при использовании других типов эксплантов, имел беловато-желтоватый цвет, меньшие размеры и большую оводненность.

При пассировании первичного каллуса на среду с меньшей концентрацией ауксинов и культивировании в темноте достаточно быстро формировался вторичный каллус (рис. 2 А). Пересадочная каллусная культура не имела морфологических отличий в зависимости от происхождения, то есть типа экспланта. Каллусная ткань имела довольно плотную структуру, коричневый иногда темно-коричневый цвет, скорость роста замедлялась, оводненность снижалась (рис. 2 Б).

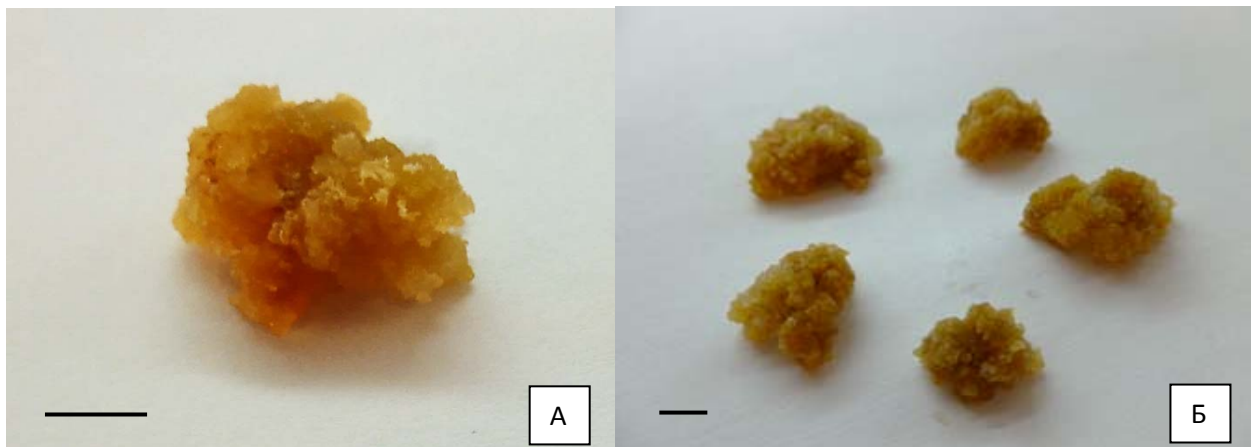


Рис. 2. Пересадочная каллусная культура сои *Glycine max* (L.) Merr.

Примечания: А – общий вид глобулярного оводненного каллуса (1–2-я неделя культивирования); Б – общий вид плотной каллусной культуры при длительном культивировании (5-я неделя); (масштаб: А, Б – 1 см)

Одной из возможных причин выявленных различий между линиями с разной фотопериодической чувствительностью по частоте каллусогенеза *in vitro* могут быть различия между ними по скорости роста и развития в условиях *in vivo*. Показано, что короткодневные изогенные линии сои отличаются от фотопериодически нейтральных линий более продолжительным периодом вегетативного роста и формированием большей вегетативной массы, что, по мнению авторов, связано с фенотипическими эффектами генов *EE* на эти процессы (Юхно, Жмурко, 2010). По-

видимому, эти различия между линиями с разной фотопериодической чувствительностью проявляются и в культуре *in vitro*.

В пользу этого предположения могут свидетельствовать результаты изучения ростовых процессов у пересадочной каллусной культуры исследованных сортов и линий сои.

Определение скорости роста пересадочных каллусных культур, полученных из семядольных эксплантов, показало, что она различна у сортов и изолиний с разной фотопериодической реакцией (рис. 3). Так, скорость роста каллусов короткодневного сорта ВІР 1746, а также короткодневных линий ІR 903 и L 65-3366 была более высокой, чем скорость роста каллусов фотопериодически нейтрального сорта Bravella, линий ІR 907 и L 71-920 (рис. 3). Особенно четко различия по скорости роста каллусов проявлялись между короткодневными и фотопериодически нейтральными изогенными по генам *EE* линиями сои.

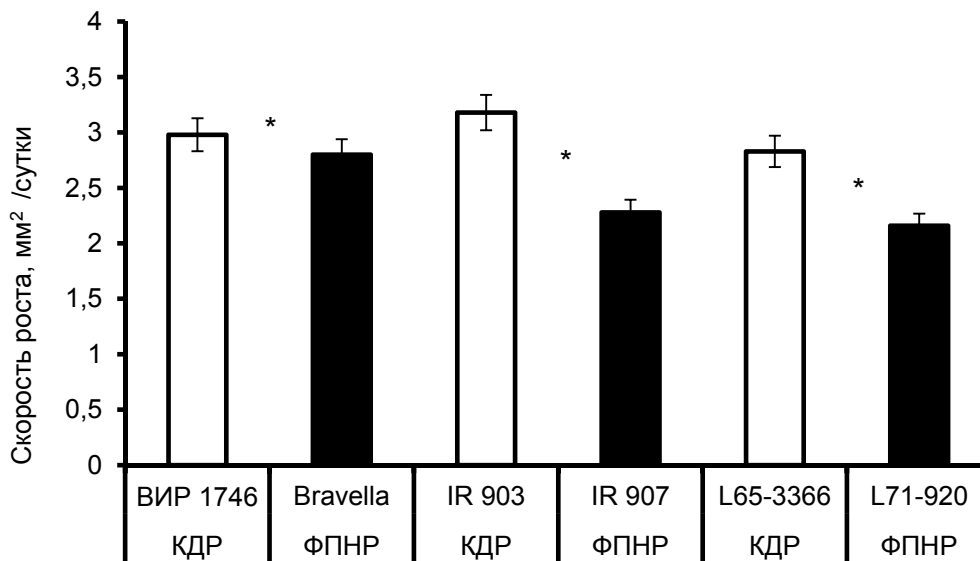


Рис. 3. Скорость роста каллусов семядолей сортов и изогенных по генам *EE* линий сои с разной фотопериодической реакцией

*Примечание: * – различия между линиями существенны при $P \leq 0,05$.*

Результаты определения ростового индекса семядольных каллусов исследованных сортов и линий приведены на рис. 4. Показано, что ростовой индекс, как и скорость роста каллусов связан с типом фотопериодической реакции опытных сортов и линий. Так, этот показатель у короткодневного сорта, а также линий был более высоким, чем у фотопериодически нейтральных образцов сои (рис. 4). Выявленные различия по ростовой реакции каллусов *in vitro* между исследованными сортами и линиями дают основание предположить, что она связана с типом их фотопериодической реакции *in vivo*.

Как известно, растения растут за счет растяжения и деления клеток тканей и органов (Иванов, 2011). Эти же процессы определяют и рост каллусных тканей.

При микроскопировании каллусов было установлено, что каллусная ткань исследуемых образцов сои, независимо от типа экспланта, состоит из преимущественно длинных, изогнутых, довольно крупных клеток (рис. 5). Молодые клетки более мелкие, могут иметь округлую форму, но в основном, на гистологических срезах и давленных препаратах (рис. 5 А) преобладали длинные изогнутые клетки (рис. 5 Б).

О том или ином механизме роста можно судить по количеству клеток в единице объема или массы ткани. Для выявления возможных различий по механизмам роста каллусов между исследованными образцами с разной фотопериодической реакцией мы провели определение количества клеток в единице массы каллусов.

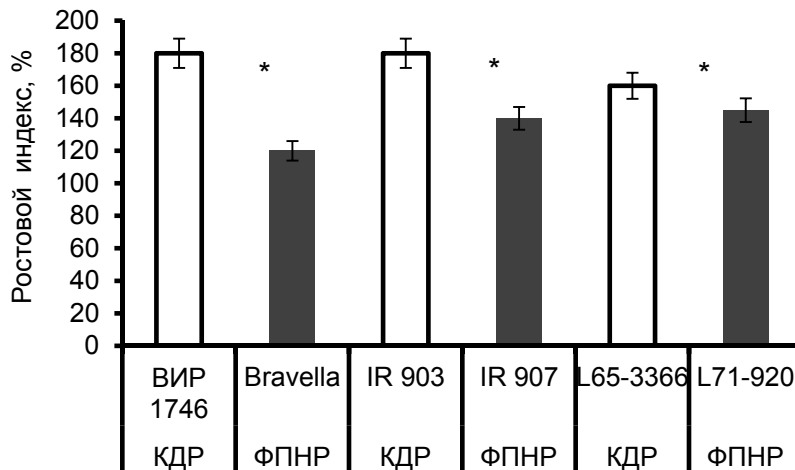


Рис. 4. Ростовой индекс семядольных каллусов сортов и изогенных по генам *EE* линий сои с разной фотопериодической реакцией
 Примечание: * – различия между линиями существенны при $P \leq 0,05$.

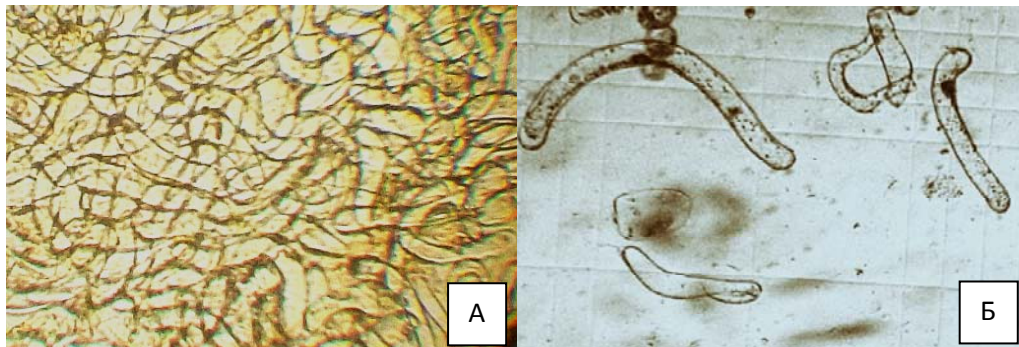


Рис. 5. Гистологическая и цитологическая характеристика пересадочной каллусной культуры – световая микроскопия (увеличение $\times 160$). А – гистологический давленный препарат каллусной ткани сои *Glycine max* (L.) Merr.; Б – типичные каллусные клетки сои *Glycine max* (L.) Merr.

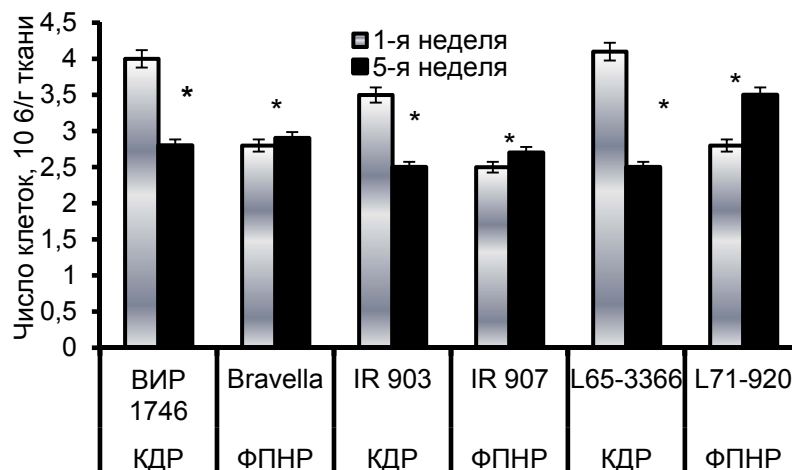


Рис. 6. Изменение числа клеток в течение культивирования каллусной ткани семядольных эксплантов сортов и изогенных по генам *EE* линий сои с разной фотопериодической реакцией
 Примечание: * – различия существенны при $P \leq 0,05$.

Полученные результаты определения изменения количества клеток в 1 грамме каллусной ткани на протяжении 5 недель культивирования каллусов приведены на рис. 6. Они показали, что у короткодневного сорта и линий в начале культивирования (первая неделя) количество клеток было большим, чем у фотопериодически нейтрального сорта и линий. В конце же культивирования (пятая неделя) этот показатель у короткодневного сорта и линий, наоборот, был меньшим, чем у фотопериодически нейтрального сорта и линий (рис. 6).

Это позволяет предположить, что рост каллуса короткодневных генотипов осуществляется преимущественно за счет растяжения клеток, в то время как у фотопериодически нейтральных – преимущественно путем деления клеток. Возможно, что различия по механизмам роста каллуса между исследованными образцами связаны с разным типом их фотопериодической реакции.

Таким образом, полученные результаты показали, что частота калусогенеза и скорость формирования каллуса у исследованных сортов и линий сои зависит от типа экспланта – органа, из которого получены каллусы. Вместе с тем, исследованные процессы роста в каллусной культуре по-разному протекают у сортов и линий с различной фотопериодической реакцией.

Так, у короткодневного сорта ВИР 1746, линий IR 903 и L65-3366 калусогенез эксплантов разных типов протекает интенсивнее и семядольные каллусы растут быстрее, чем у фотопериодически нейтрального сорта Bravella, линий IR 907 и L71-920. Кроме того, короткодневные образцы отличаются от фотопериодически нейтральных по механизмам роста каллуса – у первых он происходит преимущественно путем растяжения клеток, а у последних преимущественно за счет пролиферации. Полученные результаты позволяют предположить, что гены *EE*, которые определяют тип фотопериодической реакции сои, могут участвовать в регуляции процессов калусогенеза, а также, что характер проявления эффектов этих генов на ростовые процессы *in vivo* сохраняется и в культуре *in vitro*.

Список литературы

- Авксентьева О.А., Петренко В.А. Биотехнология высших растений: культура *in vitro*. – Х.: ХНУ имени В.Н.Каразина, 2011. – 60с. /Avksent'yeva O.A., Petrenko V.A. Biotekhnologiya vysshikh rasteniy: kul'tura in vitro. – Kh.: KhNU imeni V.N.Karazina, 2011. – 60s./
- Баранов В.Ф., Луколица В.М. Соя. Биология и технология возделывания. – Краснодар: РАСХН, 2005. – С. 80–151. /Baranov V.F., Lukolitsa V.M. Soya. Biologiya i tekhnologiya vozdelevaniya. – Krasnodar: RASHN, 2005. – S. 80–151./
- Жмурко В.В., Авксентьева О.А., Зубрич А.И. и др. Эффекты генов фотопериодической чувствительности (PPD и EE) и потребности в яровизации (VRN) на физиолого-биохимические процессы у растений // *Fiziologia și biochimia plantelor*. – 2011. – №3 (315). – С. 72–79. /Zhmurko V.V., Avksent'yeva O.A., Zubrich A.I. i dr. Effekty genov fotoperiodicheskoy chuvstvitel'nosti (PPD i EE) i potrebnosti v yarovizatsii (VRN) na fiziologo-biokhimicheskiye protsessy u rasteniy // *Fiziologia și biochimia plantelor*. – 2011. – №3 (315). – S. 72–79./
- Иванов В.Б. Клеточные механизмы роста растений. – М.: Наука, 2011. – 104с. /Ivanov V.B. Kletochnyye mekhanizmy rosta rasteniy. – M.: Nauka, 2011. – 104s./
- Калинин Ф.Л., Сарнацкая В.В., Полищук В.Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. – Киев: Наукова думка, 1980. – 487с. /Kalinin F.L., Samatskaya V.V., Polishchuk V.Ye. Metody kul'tury tkaney v fiziologii i biokhimii rasteniy. – Kiev: Naukova dumka, 1980. – 487s./
- Ламберова М.Э., Косолапова А.С. Исследование влияния ультразвука на калусогенез, содержание общего белка, активность ферментов и ингибитора трипсина в экстрактах из нативной сои сорта «Алтом» и в культуре клеток и тканей *in vitro* // *International Workshops and Tutorials on Electron Devices and Materials EDM'2008: Workshop Proceedings*. – Novosibirsk: NSTU, 2008. (http://u-sonic.ru/downloads/edm08/kosolapova_rus.pdf) /Lamberova M.Ye., Kosolapova A.S. Issledovaniye vliyaniya ul'trazvuka na kallusogenez, soderzhaniye obshchego belka, aktivnost' fermentov i ingibitora tripsina v ekstraktakh iz nativnoy soi sorta «Altom» i v kul'ture kletok i tkaney in vitro // *International Workshops and Tutorials on Electron Devices and Materials EDM'2008: Workshop Proceedings*. – Novosibirsk: NSTU, 2008./
- Носов А.М. Методы оценки характеристики роста культур клеток высших растений // *Молекулярно-генетические и биохимические методы в современной биологии растений*. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – С. 386–403. /Nosov A.M. Metody otsenki kharakteristiki rosta kul'tur kletok vysshikh rasteniy // *Molekulyarno-geneticheskiye i biokhimicheskiye metody v sovremennoy biologii rasteniy*. – M.: BINOM. Laboratoriya znaniy, 2011. – S. 386–403./
- Сидорчук Ю.В., Дейнеко Е.В., Шумный В.К. Морфогенетические реакции образцов сои (*Glycine max* L. Merr. и *G. ussuriensis* L.) в культуре *in vitro* // *Цитология и генетика*. – 1999. – Т.33, №5. – С. 7–14. /Sidorchuk Yu.V., Deyneko Ye.V., Shumnyy V.K. Morfogeneticheskiye reaksii obraztsov soi (*Glycine max* L. Merr. i *G. ussuriensis* L.) v kul'ture in vitro // *Tsitologiya i genetika*. – 1999. – T.33, №5. – S. 7–14./

- Швецов С.Г., Еникеев А.Г. Поглощение и выделение клетками сои 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в суспензионной культуре // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т.41, №4. – С. 359–363. /Shvetsov S.G., Yenikeev A.G. Pogloshcheniye i vydeleniye kletkami soi 2,4-dikhlorfenoksiuksusnoy kisloty v suspenzionnoy kul'ture // Fiziologiya i biokhimiya kul't. rasteniy. – 2009. – Т.41, №4. – С. 359–363./
- Юхно Ю.Ю., Жмурко В.В. Темпи розвитку та ростові процеси у ізогенних за генами ЕЕ ліній сої (*Glycine max* (L.) Merr.) за умов різного фотоперіоду // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: біологія. – 2010. – Вип.11, №905. – С. 217–223. /Yukhno Yu.Yu., Zhmurko V.V. Tempy rozvytku ta rostovi protsesy u izogennykh za genamy EE liniy soi (*Glycine max* (L.) Merr.) za umov riznogo fotoperiodu // Visnyk Kharkiv'skogo natsional'nogo universytetu imeni V.N.Karazina. Seriya: biologiya. – 2010. – Vyp.11, №905. – S. 217–223./
- Bernard R.L. Two major genes for time of flowering and maturity in soybeans // *Crop Sci.* – 1971. – Vol.11. – P. 242–244.
- Bonato E.R., Vello N.A. E6, a dominant gene conditioning early flowering and maturity in soybeans // *Genet. Mol. Biol.* – 1999. – №22. – P. 229–232.
- Buzzell R.I. Inheritance of a soybean flowering response to fluorescent-daylength conditions // *Can. J. Genet. Cytol.* – 1971. – Vol.13. – P. 703–707.
- Buzzell R.I., Voldeng H.D. Inheritance of insensitivity to long daylength // *Soybean Genet. Newsl.* – 1980. – Vol.7. – P. 26–29.
- Cober E.R., Voldeng H.D. A new soybean maturity and photoperiod-sensitivity locus linked to E1 and T // *Crop Sci.* – 2001a. – №41. – P. 698–701.
- Cober E.R., Voldeng H.D. Low R:FR light quality delays flowering of E7E7 soybean lines // *Crop Sci.* – 2001b. – №41. – P. 1823–1826.
- Curtis D.F., Tanner J.W., Luzzi B.M., Hume D.J. Agronomic and phenological differences of soybean isolines differing in maturity and growth habit // *Crop Sci.* – 2000. – №40. – P. 1624–1629.
- Ellis R.H., Asumadu H., Qi A., Summerfield R.J. Effects of photoperiod and maturity genes on plant growth, partitioning, radiation use efficiency, and yield in soybean *Glycine max* (L.) Merrill 'Clark' // *Annals of Botany.* – 2000. – №85. – P. 335–343.
- Federicia E., Touché A., Choquart S. et al. High isoflavone content and estrogenic activity of 25 year-old *Glycine max* tissue cultures // *Phytochemistry.* – 2003. – Vol.64, №3. – P. 717–724.
- Fomenko, T.I., Malyushm M.K. Soybean (*Glycine max* L.) morphogenesis in vitro tissue culture // *Plant Physiol.* – 2006. – Vol.42. – P. 302–308.
- Jackson S.D. Plant responses to photoperiod // *New Phytologist.* – 2009. – Vol.181, №3. – P. 517–531.
- Liu B., Abe J. QTL mapping for photoperiod insensitivity of a Japanese soybean landrace Sakamotowase // *J. Hered.* – 2010. – №101. – P. 251–256.
- Liu T., van Staden J. Partitioning of carbohydrates in salt-sensitive and salt-tolerant soybean callus cultures under salinity stress and its subsequent relief // *Plant Growth Reg.* – 2001. – Vol.33, №1. – P. 13–17.
- Liu T., van Staden J. Selection and characterization of sodium chloride-tolerant callus of *Glycine max* (L.) Merr cv. Acme // *Plant Growth Reg.* – 2000. – Vol.31, №3. – P. 195–207.
- McBlain B.A., Bernard R.L. A new gene affecting the time of flowering and maturity in soybeans // *J. Hered.* – 1987. – Vol.78. – P. 160–162.
- Pallikonda P.K. Impact of E-genes on soybean (*Glycine max* L.[Merr]) development, senescence and yield. – University of Kentucky, Master's Theses, 2006. – 124p.
- Ray J.D., Hinson K.E., Manjono J.B., Malo M.F. Genetic control of long juvenile trait in soybean // *Crop Sci.* – 1995. – №35. – P. 1001–1006.
- Shetty K., Asano Y., Oosawa K. Stimulation of in vitro shoot organogenesis in *Glycine max* (Merrill.) by allantoin and amides // *Plant Sci.* – 1992. – Vol.81, №2. – P. 245–251.
- Upadhyay A.P., Ellis R.H., Summerfield R.J. et al. Characterization of photothermal flowering responses in maturity isolines of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] cv. Clark // *Ann. Bot.* – 1994. – Vol.74. – P. 87–96.

Представлено: О.В.Білінська / Presented by: Ye.V.Belinskaya

Рецензент: О.Ю.Герман / Reviewer: Ye.Yu.German

Подано до редакції / Received: 10.04.2014