

УДК 581.143.6 : 633.34

**МОРФОГЕНЕТИЧНІ РЕАКЦІЇ В КУЛЬТУРІ *IN VITRO* ІЗОГЕННИХ
ЗА ГЕНАМИ *EE* ЛІНІЙ СОЇ *GLYCINE MAX* (L.) MERR.**

М. Васильченко¹, С. Степченкова¹, О. Авксентьєва^{1,2*}

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
майдан Свободи, 4, Харків 61022, Україна

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна
e-mail: avksentyeva@karazin.ua

У роботі представлені результати дослідження особливостей морфогенетичних реакцій в культурі *in vitro* зразків сої культурної, що різняться за фотоперіодичною чутливістю. Дослідження проводили на 7 генотипах ізогенних за генами *E*-серії (*early maturity genes*) ліній (NILs) сої культурної *Glycine max* (L.) Merrill сорту Clark. Показано, що всі лінії ефективно вводяться в культуру *in vitro*, здатні до прямого морфогенезу за використання як експланта котиледонних вузлів, але різняться за ступенем прояву та спрямованістю морфогенетичних реакцій. Ізолінії з короткоденною фотоперіодичною реакцією (КДР) реалізують морфогенетичні реакції за умов *in vitro* шляхом гемогенезу та ризогенезу, в той час як фотоперіодично нейтральні ізолінії (ФПР) – більшою мірою шляхом калусогенезу. Встановлено, що КДР ізолінії характеризуються максимальними показниками адвентивного пагоноутворення, ризогенезу та формуванням більшої кількості пагонів на експланті на регенераційних середовищах різного складу порівняно з фотоперіодично нейтральними ізолініями. Обговорюється зв'язок фотоперіодичної реакції ізогенних ліній *in vivo*, яка детермінується їхнім генотипом, і особливостями прямого морфогенезу за умов *in vitro*.

Ключові слова: *Glycine max* (L.) Merrill, NILs, система генів *E*-серії (*early maturity genes*), фотоперіодична реакція, прямий морфогенез *in vitro*

Соя культурна (*Glycine max* (L.) Merrill) – це рослина зі сімейства бобових, яка широко вирощується у світі для споживання людиною, виробництва кормів, технічних цілей тощо. Насіння сої характеризується найвищим вмістом білка серед бобових культур, і його якість поліпшується з кожним роком, завдяки дослідженню генетичних ознак. Останніми роками у селекційних програмах багатьох сільськогосподарських культур активно використовуються біотехнологічні методи, які дають змогу суттєво підвищити ефективність селекційного процесу і створювати нові генотипи на основі клітинної інженерії [6]. Отримання нових форм рослин з використанням методів культур *in vitro* передбачає підбір та оптимізацію умов для індукції калусогенезу, морфогенезу, отримання рослин-регенерантів і адаптацію їх до умов *ex vitro* [5, 6]. Зазвичай протоколи цих етапів строго індивідуальні та значною мірою детерміновані генотипом вихідної рослини. Відомо, що є дуже великі розбіжності у морфогенетичному потенціалі рослин різних видів та сортів і на цей час ще недостатньо відомостей про регуляторні механізми морфогенетичних реакцій, які обумовлюють різноманітні шляхи розвитку рослин за умов *in vitro* [4]. Соя як представник дводольних рослин легко вводиться в культуру *in vitro* та формує типову калусну тканину, але морфогенетичні процеси й отримання рослин-регенерантів не завжди є ефективними [7, 11]. Для прямого та непрямого морфогенезу сої найчастіше як експланти використовую-

ють гіпокотилі [12], сім'ядольні вузли [16], котиледони [15] та ін. Ефективність процесу залежить від складу живильного середовища [13], умов культивування [18], вмісту фітогормонів [17] та інших екзогенних факторів впливу. Дуже важлива роль вихідної рослини-донора – її генотипу, віку, фізіологічного стану, типу експланта тощо. У зв'язку з цим на сьогодні актуальним завданням є виявити роль конкретних генетичних систем і генів у здатності рослинних експлантів сої до культивування за умов *in vitro*.

Відомо, що регуляція темпів розвитку у сої культурної детермінована системою генів *E-серії*, яка контролює тривалість періодів від сходів до цвітіння і від цвітіння до дозрівання, а також опосередковано пов'язана з продуктивністю [9, 14]. До теперішнього часу виявлено 8 основних генів *E-серії* (*early maturity*), що контролюють час до цвітіння і дозрівання: *E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7* і *E8* [8, 20]. Встановлено, що головними серед них є гени *E1, E2*, домінуючі алелі яких обумовлюють прояв короткоденної фотоперіодичної реакції рослин, а рецесивні алелі – фотоперіодично нейтральну реакцію. Зручною і широко визнаною моделлю для досліджень генетичних систем є майже ізогенні лінії сої (*NILs – near isogenic lines*), створені в генофоні сорту Clark, які відрізняються між собою тільки станом окремих локусів генів *E-серії*. У разі використання цієї моделі виявлені чіткі фенотипові ефекти генів *E-серії* на ріст і розвиток сої *in vivo* на організменому рівні [10]. Однак до теперішнього часу не проведено вивчення ефектів цих генів на морфогенетичні реакції в культурі *in vitro*, в якій виникають нові функціональні зв'язки, відмінні від тих, які притаманні цілісному рослинному організму за умов *in vivo*. Такі дослідження мають важливе значення для поглиблення поширених уявлень про функціональну значимість генетичної регуляції росту і розвитку на різних рівнях організації рослинного організму та виявлення регуляторних механізмів прояву різноманітних морфогенетичних реакцій за умов культури *in vitro*.

Метою роботи було дослідження можливої ролі системи генів *E-серії*, яка визначає фотоперіодичну реакцію рослин за умов *in vivo*, у детермінації процесів різноманітних шляхів морфогенезу в системі *in vitro* у ізогенних ліній сої *Glycine max* (L.) Merrill сорту Clark.

Матеріали та методи

Рослинний матеріал

Дослідження проводили на семи генотипах – ізогенних за *E-генами* ліній сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr). Ці майже ізогенні лінії NILs створені в генофоні сорту Clark і відрізняються за станом окремих локусів генів *E-серії* та фотоперіодичною реакцією (табл. 1).

Таблиця 1

Генотип і фотоперіодична реакція NILs за генами *EE* сої сорту Clark

Ізолінія	Генотип*	Фотоперіодична реакція (ФПР)**
<i>L 74-441</i>	<i>E1 E2 e3 E4 e5 E7</i>	Короткоденна (КДР)
<i>L 80-5879</i>	<i>E1 e2 e3 E4 e5 E7</i>	Короткоденна (КДР)
сорт Clark	<i>e1 E2 E3 E4 e5 E7</i>	Короткоденна (КДР)
<i>L 63-3016</i>	<i>e1 E2 E3 e4 e5 E7</i>	Короткоденна (КДР)
<i>L 94-1110</i>	<i>e1 e2 E3 E4 E5 E7</i>	Нейтральна (ФПН)
<i>L 63-3117</i>	<i>e1 e2 E3 E4 e5 E7</i>	Нейтральна (ФПН)
<i>L 71-920</i>	<i>e1 e2 e3 E4 e5 E7</i>	Нейтральна (ФПН)

Примітки: * дані наведені за Agricultural Research Service www.ars.usda.gov; ** – результати власних досліджень за вегетації рослин на географічній широті м. Харкова (50 ° п.ш.)

Насіння ліній репродукували при культивуванні рослин на експериментальній ділянці кафедри фізіології та біохімії рослин і мікроорганізмів Харківського національного

університету імені В.Н. Каразіна в умовах штучно створеного короткого фотоперіоду у ході польових експериментів 2012–2014 років.

Введення в культуру in vitro

Для приготування живильних середовищ, стерилізації та культивування рослинного матеріалу використовували традиційні для робіт у культурі рослинних тканин методики [1, 5]. Введення в культуру *in vitro* здійснювали через стадію асептичних проростків, які вирощували на середовищі Шенка-Хільдербранта (ШХ) без стимуляторів росту, що містить вітаміни В₁ і РР – 5 мг/л, В₆ – 0,5 мг/л, мезо-інозит 1 г/л, сахарозу 30 г/л і агар-агар 7 г/л, протягом 10 діб в окремих пробірках за освітлення 1,5 кЛк при 26 °С за 16-годинного фотоперіоду. Потім зі сформованих асептичних проростків за умов стерильності проводили вичленення експлантів – котиledonних вузлів (3–4 мм завдовжки) для дослідження морфогенетичних реакцій у культурі *in vitro*.

Морфогенез in vitro

Відокремлені котиledonні вузли пасивували на регенераційні середовища різного складу: Мурасиге і Скуга МС-1 – з повним вмістом макро- і мікросолей та додаванням БАП і НОК (МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК) та МС-2 – з половинним вмістом макро- і мікросолей (½ МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 НОК). Експланти культивували упродовж 6 тижнів за освітлення 1,5 кЛк при температурі 22 °С та 16-годинному фотоперіоді. Різноманітність прояву морфогенетичних реакцій у культурі *in vitro* аналізували за показниками гемо-, калусо- та ризогенезу, розраховуючи їхню частоту як відношення кількості експлантів, що утворюють дані морфогенні структури, до загальної кількості експлантів у відсотках. Вплив складу живильного середовища на прямий морфогенез у культурі *in vitro* розраховували за показниками загального адвентивного пагоноутворення та кількості пагонів на одному експланті [1, 5].

Статистична обробка

Усього проведено три біологічні серії експериментів, кожен генотип сої культивували не менш ніж у 3–4 чашках Петрі по 7–10 експлантів у кожній. Отримані дані оброблені методом однофакторного статистичного аналізу [2] з використанням пакету програмного забезпечення MS Excel 2010.

Результати і їхнє обговорення

Морфогенез рослин за умов культури *in vitro* має ширший спектр прояву різноманітних шляхів, ніж за умов *in vivo*. Під час морфогенезу формуються нові тканини й органи, а відповідні процеси мають назви, що відображають їхню сутність – гістогенез, ризогенез, гемогенез, соматичний ембріогенез, флоральний гемогенез тощо [5, 6]. Однак генетичні, клітинні та молекулярні механізми індукції цих процесів у культурі *in vitro* ще досі не зрозумілі. Для сої культурної, яка інтенсивно досліджується методами культури *in vitro*, найбільш розповсюдженим шляхом морфогенезу *in vitro* є прямий морфогенез із використанням котиledonних вузлів як експланта [12]. Останнім часом з'являються роботи, у яких розробляють протоколи непрямого шляху отримання регенерантів (через соматичний ембріогенез), але вихід рослин або дуже низький [19], або рослини, отримані цим способом, є стерильними [16].

Ми вивчали індукцію прямого морфогенезу у семи генотипів ізогенних ліній сої культурної, що різняться за фотоперіодичною реакцією. Експланти – котиledonні вузли – пасивували на середовища різного складу з додаванням фітогормонів цитокинінів (БАП) і ауксинів (НОК) у співвідношенні МС-1 6:1 та МС-2 5:1 для індукції процесу формування адвентивного пагоноутворення (гемогенезу). У разі культивування *in vitro* всі досліджувані ізоляції проявляли морфогенетичні реакції, але різною мірою та різної спрямованості (табл. 2).

Таблиця 2

Морфогенетичні реакції в культурі *in vitro* ізогенних за генами *E*-серії ліній NILs сої сорту Clark (культивування на середовищі МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК)

Ізолінії	Генотип	Гемогенез, %	Калусогенез, %	Ризогенез, %
Короткоденні ізолінії (КДР)				
L74-441	E1 E2 e3 E4 e5 E7	92,5	56,1	41,7
L80-5879	E1 e2 e3 E4 e5 E7	87,7	65,6	46,2
Clark (copm)	e1 E2 E3 E4 e5 E7	88,2	52,3	30,5
L63-3016	e1 E2 E3 e4 e5 E7	91,0	63,4	32,3
	HIP _{0,05}	5,1	7	11
Фотоперіодично нейтральні ізолінії (ФПН)				
L94-1110	e1 e2 E3 E4 E5 E7	65,7	85,2	17,2
L63-3117	e1 e2 E3 E4 e5 E7	73,4	87,3	23,5
L71-920	e1 e2 e3 E4 e5 E7	57,2	93,2	12,3
	HIP _{0,05}	7	5	9

У результаті наших експериментів показано, що морфогенетичні реакції у досліджуваних ізогенних ліній сої в культурі *in vitro* проявлялися шляхом гемогенезу (рис. 1, а), гемогенезу та калусогенезу (рис. 1, б), гемогенезу, калусогенезу та ризогенезу (рис. 1, в). У короткоденних ізоліній (КДР) L74-441, L80-5879, Clark, L63-3016 частота гемогенезу становила 92,5–87,7 %, в той час як у фотоперіодично нейтральних (ФПН) ізоліній L94-1110, L63-3117, L71-920 показники частоти прямого морфогенезу були істотно нижчими 57,2–73,4 %. Також органогенез у культурі *in vitro* за культивування на живильному середовищі МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК був реалізований шляхом ризогенезу: корені утворювалися безпосередньо з котиледонних вузлів, або шляхом непрямого морфогенезу з калусної культури, що попередньо була сформована з первинного експланта (рис. 1, в). За показниками частоти ризогенезу, як і гемогенезу, всі КДР ізолінії істотно переважають ФПН ізолінії (табл. 2).

При культивуванні на штучному живильному середовищі поряд із процесами органогенезу всі досліджувані ізолінії сої формували калусні тканини, тобто морфогенез також ішов шляхом калусогенезу (рис. 1, б). Згідно з отриманими результатами, частота калусогенезу у ФПН ізоліній L94-1110, L63-3117, L71-920 становила 93,2–85,2 %, що значно переважало показники частоти калусогенезу у КДР ізоліній L74-441, L80-5879, Clark, L63-3016 – 65,6–52,3 %.

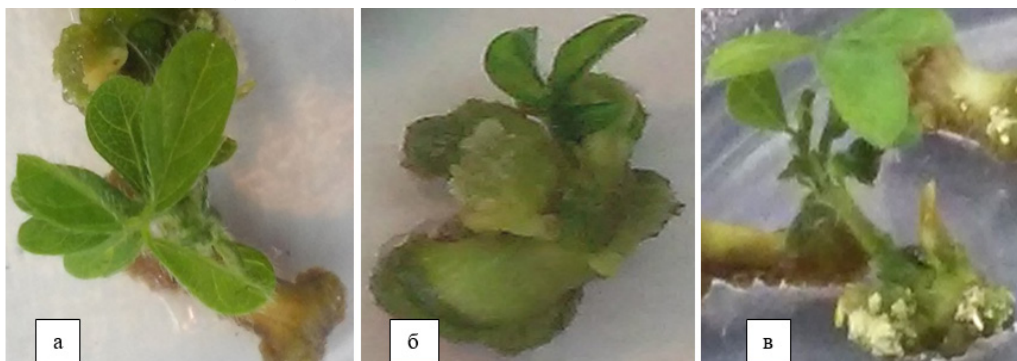


Рис. 1. Морфогенетичні реакції ізогенних *E*-серії ліній сої *Glycine max* (L.) Merr. сорту Clark у культурі *in vitro* (живильне середовище МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК): а – адвентивне пагоноутворення короткоденної ізолінії L74-441 генотип E1 E2 e3 E4 e5 E7; б – пагоноутворення та калусогенез фотоперіодично нейтральної ізолінії L71-920 генотип e1 e2 e3 E4 e5 E7; в – адвентивне пагоноутворення та ризогенез короткоденної ізолінії L80-5879 генотип E1 e2 e3 E4 e5 E7

У наших попередніх дослідженнях [3] було показано, що всі ізоляції *E*-серії ефективно вводяться в культуру *in vitro* та формують первинні й пересадкові калусні культури. Особливості калусогенезу опосередковано пов'язані з фотоперіодичною реакцією, тобто детерміновані генотипом [3]. Так, ізоляції з короткоденною реакцією характеризувалися швидкими темпами первинного калусогенезу, але в пересадковій культурі знижували темпи росту, а фотоперіодично нейтральні ізоляції мали більш низькі темпи первинного калусогенезу, але значно випереджали короткоденні лінії за субкультивування.

Таким чином, нами встановлено протилежні тенденції в реалізації морфогенетичних реакцій за умов *in vitro* у ізоляцій, які контрастні за фотоперіодичною реакцією в умовах *in vivo*. У КДР ізоляцій морфогенез переважно відбувався шляхом реалізації процесів формування надземної частини рослин (органогенезу) та кореневої системи (ризогенезу). Водночас за цих самих умов культивування у ФПН ізоляцій морфогенез максимально реалізувався шляхом калусогенезу.

Склад живильного середовища, вміст основних фітогормонів і синтетичних сполук гормональної дії є важливим фактором, що зумовлює спрямованість морфогенетичних реакцій сої в культурі *in vitro* [17, 18]. Результати дослідження адвентивного пагоноутворення з котиledonних вузлів на 6-й тиждень культивування на середовищах різного складу показали (табл. 3), що короткоденні ізоляції сої значно інтенсивніше формують пагони порівняно з фотоперіодично нейтральними ізоляціями (як за показниками загального пагоноутворення, так і за кількістю новоутворених пагонів на одному експланті).

Таблиця 3

Морфогенез у культурі *in vitro* ізогенних за генами *E*-серії ліній NILs сої сорту Clark

Ізоляції	Генотип	Частота адвентивного пагоноутворення, %	Число пагонів / експлант, шт.	
			МС-1 *	МС-2 **
Короткоденні ізоляції				
L74-441	E1 E2 e3 E4 e5 E7	92,5	6,4	4,0
L80-5879	E1 e2 e3 E4 e5 E7	87,7	5,3	4,6
Clark (сорт)	e1 E2 E3 E4 e5 E7	88,2	6,4	4,2
L63-3016	e1 E2 E3 e4 e5 E7	91,0	6,0	4,0
	HIP _{0,05}	5,1	0,7	0,4
Фотоперіодично нейтральні ізоляції				
L94-1110	e1 e2 E3 E4 E5 E7	65,7	4,1	3,0
L63-3117	e1 e2 E3 E4 e5 E7	73,4	4,8	3,3
L71-920	e1 e2 e3 E4 e5 E7	57,2	3,3	2,5
	HIP _{0,05}	5,1	0,3	0,2

Примітки: склад живильного середовища: *МС-1 МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК (6:1); **МС-2 ½ МС + 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК (5:1)

У короткоденних ізоляцій L74-441, L80-5879, Clark, L63-3016 число паг./експ. становить за культивування на середовищі МС-1 5,3 – 6,4 паг./експ., на середовищі МС-2 4,0 – 4,6 паг./експ. У той же час у фотоперіодично нейтральних ізоляцій L 94-1110, L 63-3117, L 71-920 за культивування на середовищі МС-1 3,3 – 4,8 паг./експ., а на середовищі МС-2 – 2,5 – 3,3 паг./експ. відповідно. Найбільш інтенсивне адвентивне пагоноутворення серед короткоденних ізоляцій спостерігали у ліній L74-441 з генотипом E1E2e3E4e5E7 та сорту Clark з генотипом e1E2E3E4e5E7, серед фотоперіодично нейтральних ізоляцій – у лінії L63-3117 з генотипом e1e2E3E4e5E7.

За культивування на середовищі з половинним вмістом макро- та мікросолей ½ МС+ 0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК загально гомогенез (адвентивне пагоноутворення) відбувався менш інтенсивно (рис. 2, а), крім того, спостерігалися порушення у розвитку адвентивних пагонів – хлороз і некрози (рис. 2, б, в). Тобто для нормального розвитку новоутворених

пагонів для всіх ізоляцій сої є необхідним повноцінний вміст макро- та мікроелементів у складі живильного середовища.

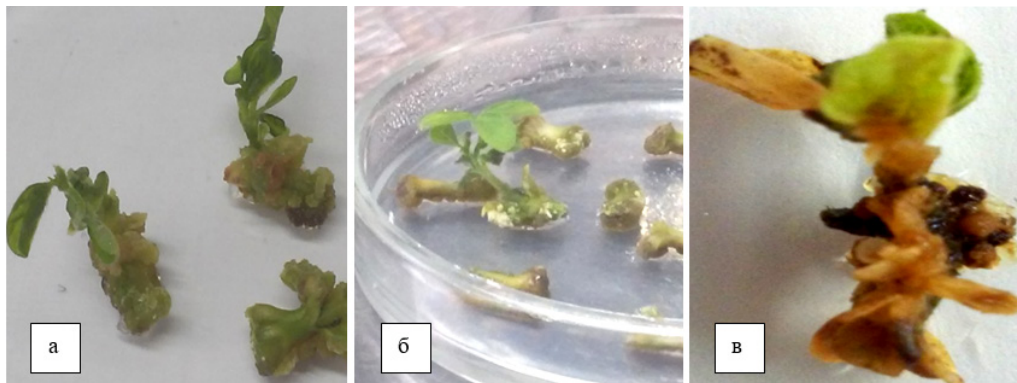


Рис. 2. Морфогенез у культурі *in vitro* ізогенних *E*-серії ліній сої *Glycine max* (L.) Merr. сорту Clark з контрастною фотоперіодичною реакцією (живильне середовище $\frac{1}{2}$ МС+0,5 мг/л БАП + 0,1 мг/л НОК): а – адвентивне пагоноутворення короткоденної ізоляції L74-441 генотип *E1E2e3E4e5E7*; б – загальний вигляд пагоноутворення у фотоперіодично нейтральної ізоляції L71-920 генотип *e1 e2 e3 E4 e5 E7*; в – формування некротичних адвентивних пагонів за культивування котиledonних вузлів на регенераційному середовищі МС-2

Отже, склад живильного середовища МС-1 – МС + 3 мг/л БАП + 0,5 мг/л НОК (співвідношення ФГ 6:1) з повним вмістом макро- і мікроелементів є оптимальним для адвентивного пагоноутворення для всіх досліджуваних ізоляцій сої, незалежно від їхньої фотоперіодичної реакції.

Таким чином, ізоляції з короткоденною фотоперіодичною реакцією характеризуються максимальними показниками адвентивного пагоноутворення та ризогенезу на регенераційних середовищах різного складу, порівняно з фотоперіодично нейтральними ізоляціями, морфогенез яких більшою мірою реалізується шляхом калусогенезу.

Вірогідно, що генотип ізоляцій, який детермінує фотоперіодичну чутливість рослин сої за умов *in vivo*, впливає на спрямованість морфогенетичних реакцій у культурі *in vitro*. Це припущення базується на тому факті, що досліджені лінії за однакового генотипу сорту Clark розрізняються тільки станом певних генів *EE* (домінантний і/або рецесивний) і проявляють різний характер морфогенетичних реакцій.

Одним із механізмів прояву ефектів *E*-генів на морфогенетичні реакції у культурі *in vitro* може бути їхня участь за цих умов у регуляції фізіолого-біохімічних процесів подібно до того, як це відбувається у системі цілісної рослини *in vivo*, у якій гени *E*-серії, залежно від їхнього стану (домінантний чи/або рецесивний), визначають тип фотоперіодичної реакції досліджуваних ліній опосередковано, через детермінацію метаболічних і фітогормональних процесів.

Автори висловлюють подяку Національному Центру генетичних ресурсів рослин України за допомогу в отриманні ізогенних за *E*-генами ліній сої з колекції USDA (Agricultural Research Service).

Робота виконана в рамках держбюджетної теми «Дослідження фізіолого-біохімічних і молекулярно-біологічних механізмів генетичного контролю розвитку і продукційного процесу сільськогосподарських культур» (номер держреєстрації № 0112U000101) за пріоритетним тематичним напрямом «Фундаментальні проблеми наук про життя та розвиток біотехнологій», згідно з постановою КМУ № 942 від 7.09.2011.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Авксентьева О. А., Петренко В. А. Биотехнология высших растений: культура *in vitro*. Х.: ХНУ имени В.Н. Каразина, 2011. 60 с.
2. Атраментова Л. О., Утєвська О. М. Статистичні методи в біології: підручник. Х.: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2007. 288 с.
3. Васильченко М. С., Авксентьева О. А., Жмурко В. В. Фотопериодическая реакция и каллусогенез изогенных по Е-генам линий сои культурной // Вісн. Харків. ун-ту. Сер. біол. 2014. Т. 23. № 1129. С. 44–53.
4. Жумабаева Б. А., Джангалина Є. Д., Айташева З. Г. Морфогенетические реакции в культуре тканей зерновых бобовых культур // Вестн. КазНУ. Сер. биол. 2012. Т. 55. № 3. С. 58–62.
5. Калинин Ф. Л., Сарнацкая В. В., Полищук В. Е. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. К.: Наук. думка, 1980. 488 с.
6. Мельничук М. Д., Новак Т. В., Кунах В. А. Біотехнологія рослин. К.: Поліграф Консалтинг, 2003. 520 с.
7. 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.
8. Cober E. R., Molnar S. J., Charette M., Voldeng H. D. A new locus for early maturity in soybean // Crop Sci. 2010. Vol. 50. P. 524–527.
9. Cober E. R., Morrison M. J. Regulation of seed yield and agronomic characters by photoperiod sensitivity and growth habit genes in soybean // Theor. Appl. Genet. 2010. Vol. 120. P. 1005–1012.
10. Destro D., Carpentieri-Pipolo V., Kiihl R. A. S., Almeida L. A. Photoperiodism and genetic control of the long juvenile period control in soybean // Crop Breed. Appl. Biot. 2001. Vol. 1. P. 72–92.
11. Fomenko T. I., Malyushm M. K. Soybean (*Glycine max* L.) morphogenesis *in vitro* tissue culture // Plant Physiol. 2006. Vol. 42. P. 302–308.
12. Hai H. N., Lal S. K., Singh S. K. et al. Direct organogenesis in some soybean genotypes using cotyledonary segments // Indian J. Biotechnol. 2014. Vol. 13 P. 527–531.
13. Hofmann N., Nelson R. L., Korban S. S. Influence of media components and pH on somatic embryo induction in three genotypes of soybean // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2004. Vol. 77. P. 157–163.
14. Kim M. Y., Shin J. H., Kang Y. J. et al. Divergence of flowering genes in soybean // J. Biosci. 2012. Vol. 37. N 5. P. 857–870.
15. Ma X. H., Wu T. L. Rapid and efficient regeneration in soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] from whole cotyledonary node explants // Acta Physiol. Plant. 2008. Vol. 30. P. 209–216.
16. Mangena P., Mokwala P. W., Nikolova R. V. *In vitro* multiple shoot induction in soybean // Int. J. Agric. Biol. 2015. Vol. 17. N 4. P. 838–842.
17. Radhakrishnan R., Ramachandran A., Kumari B. D. Rooting and shooting: Dual functions of thidiazuron in *in vitro* regeneration of soybean (*Glycine max*. L.) // Acta Physiol. Plant. 2009. Vol. 31. P. 1213–1217.
18. Sairam R. V., Franklin G., Hassel R. et al. A study on the effect of genotypes, plant growth regulators and sugars in promoting plant regeneration via organogenesis from soybean cotyledonary nodal callus // Plant Cell Tissue Organ Cult. 2003. Vol. 75. N 1. P. 79–85.

19. Ugandhar T., Venkateshwarlu M., Parvathi D. et al. High frequency somatic embryogenesis and plantlet regeneration from shoot tip explants of Soybean // Sci. Res. Repot. 2011. Vol. 1. N 3. P. 146–150.
20. Zhai H., Lu S., Wang Y. et al. Allelic variations at four major maturity E genes and transcriptional abundance of the E1 gene are associated with flowering time and maturity of soybean cultivars // Plos One. 2014. Vol. 9. N 5. P. 1–16.

Стаття: надійшла до редакції 24.10.16

доопрацьована 23.02.17

прийнята до друку 06.03.17

MORPHOGENETIC REACTIONS IN CULTURE *IN VITRO* OF ISOGENIC BY GENES *EE* LINES SOYBEAN *GLYCINE MAX* (L.) MERR.

M. Vasilchenko¹, S. Stepchenkova¹, O. Avksentieva^{1,2}

¹V.N. Karazin National University of Kharkiv
4, Svoboda Sq., Kharkiv 61022, Ukraine

²Taras Shevchenko National University of Kyiv
64/13, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: avksentyeva@karazin.ua

The results of studies of the morphogenetic responses of soybean culture *in vitro*, differing in photoperiodic sensitivity are presented. Research has been carried out on 7 isogenic genotypes for the genes *E-series* (*early maturity genes*) lines (NILs) of soybean *Glycine max* (L.) Merrill varieties Clark. It has been shown that all the lines have been efficiently in culture *in vitro*, able to direct morphogenesis using cotyledon explants as nodes, but differ in the degree of manifestation and direction of morphogenetic responses. Isolines with shortday photoperiodic reaction (SDP) implement morphogenetic reaction *in vitro* by gemogenesis and rhizogenesis ways, while the photoperiodic neutral isolines (FNP) – increasingly realized by callusogenesis. It has been found that the SDP isogenic lines have been characterized by the highest rates of adventitious shoot formation, root formation and the formation of a larger number of shoots on explant on various regeneration media than photoperiodic neutral isogenic lines. The relationship between the photoperiodic response isogenic lines *in vivo*, which is determined by genotype, and features of morphogenesis *in vitro* are discussed.

Keywords: *Glycine max* (L.) Merrill, NILs, gene system *E-series* (*early maturity genes*), the photoperiodic response, direct morphogenesis *in vitro*