

А.В. ПАХОМОВ, А.И. ЕМЕЦ, Я.Б. БЛЮМ

Институт клеточной биологии и генетической инженерии
НАН Украины,
ул. акад. Заболотного, 148, 03143 Киев

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭМБРИОГЕННОГО ПОТЕНЦИАЛА СОРТОВ СОИ, РАЙОНИРОВАННЫХ В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ЗОНАХ МИРА



Получены эмбрионные каллусы 19 сортов сои, происходящих из различных эколого-географических регионов мира (Европа, Америка, Китай и Дальний Восток), а также проанализирован их эмбрионный потенциал. Среди исследуемых генотипов выявлены сорта с высокими показателями эмбриогенеза: TSZ-14, Амурская-111, Грибовская местная. Помимо этого, сорт *Mantherova biela vel.* был идентифицирован как генотип, обладающий наиболее высоким эмбрионным потенциалом (80 %). Проведено сравнение полученных данных с аналогичными показателями у сортов украинской селекции и определены различные факторы, влияющие на индукцию соматического эмбриогенеза сои. Было также предположено, что сорта сои, районированные на Дальнем Востоке и в Европе, могут представлять наибольший интерес для проведения дальнейшего скрининга сортов, направленного на выявление генотипов с высоким эмбрионным потенциалом. Полученные результаты дополняют пул данных по изучению явления соматического эмбриогенеза у разных генотипов сои и позволяют использовать наилучшие сорта сои для последующих генно-инженерных манипуляций.

© А.В. ПАХОМОВ, А.И. ЕМЕЦ, Я.Б. БЛЮМ, 2005

Введение. К настоящему времени разработан и применяется широкий спектр методов введения в культуру *in vitro*, регенерации и генетической трансформации различных генотипов сои (*Glycine max* (L.) Merr.) [1–4]. Среди всех используемых методов одной из наиболее удобных и эффективных систем для генно-инженерных манипуляций с соей является культура соматических эмбрионидов [1]. Поэтому изучению закономерностей соматического эмбриогенеза сои и основных факторов, влияющих на индукцию эмбриогенеза и последующую пролиферацию эмбрионных тканей этого растения, посвящено большое количество исследований [3, 5–7]. Однако следует заметить, что существующие методы трансформации не всегда являются достаточно эффективными и этот показатель зависит от генотипа растения, а возможность их применения по отношению к сортам сои, адаптированным в различных зонах вегетации, мало изучена.

Поэтому в ряде работ оптимизацию протоколов индукции соматического эмбриогенеза сои проводили одновременно со скринингом эмбрионного потенциала различных ее сортов. Так, в работе Симмондс и Дональдсон [4] проанализирована эмбрионная активность и эффективность биолиственной трансформации 20 сортов сои, адаптированных к короткому вегетационному периоду (Северная Америка). Впоследствии нами был исследован эмбрионный потенциал ряда сортов сои украинской селекции [10]. Выявление среди них сортов с высоким эмбрионным потенциалом поставило вопрос о том, какие сорта сои, районированные в других эколого-географических зонах мира, но произрастающих и в Украине, могут обладать аналогичными свойствами. В связи с этим целью нашего настоящего исследования было выявление высокоэмбрионных генотипов среди сортов сои, районированных в Европе, Америке, Китае и на Дальнем Востоке, для дальнейшего использования в работах по генетической трансформации.

Материалы и методы. Исследования проводили на сортах сои (*Glycine max* (L.) Merr.) *Mantherova biela vel.*, Грибовская местная, Laredo, K-766, K-2601, Амурская-51, Амурская-111, Амурская-154, Амурская-347, Ronest-1, Ronest-104, Magna, Tzi-ti 4, Capital, Ada, Dunayka, TSZ-

14, KZ-26 и Харбинская, любезно предоставленных Южным биотехнологическим центром в растениеводстве УААН.

Растения сои выращивали в условиях открытого грунта в период с мая по сентябрь. Индукцию соматического эмбриогенеза проводили с использованием молодых бобов с незрелыми семядолями, образовавшимися на 7—14-й день после цветения растений. Изолирование и стерилизацию эксплантов из незрелых семядолей проводили в соответствии с процедурами, описанными нами ранее [7].

Индукцию соматического эмбриогенеза и наращивание соматической эмбрионной массы осуществляли в соответствии с методом, описанным ранее [10—12]. С этой целью незрелые семядоли длиной 3—5 мм помещали внешней стороной на питательную среду МСД40 [9], содержащую соли Мурасиге-Скуга [8], витамины Гамборга [9], 40 мг/л дихлорфеноксисукусной кислоты (2,4-Д) и 3%-ную сахарозу. Экспланты культивировали на рассеянном свете при 16-часовом фотопериоде и температуре 24 °С. Спустя 6 нед после начала культивирования на среде МСД40 эмбрионные ткани переносили на питательную среду МСД20 (20 мг/л 2,4-Д).

Регенерацию растений сои проводили в несколько этапов в соответствии с ранее предложенной методикой [10, 11]. Для этого эмбрионный каллус для прохождения стадии гистодифференциации переносили на среду МСМ6АС, содержащую соли МС, витамины Гамборга, 6%-ную мальтозу, 0,5%-ный активированный уголь и 0,2%-ный Фитогель, рН 5,8. Спустя 4 нед экспланты переносили на свежую среду МСМ6, не содержащую активированный уголь, для дальнейшего развития [11]. Впоследствии образовавшиеся регенеранты помещали в чашки Петри на 48 ч для прохождения стадии обезвоживания [5]. Подсушенные экспланты помещали на безгормональную среду МС0 и регенерировали растения на рассеянном свете при 16-часовом фотопериоде и температуре 27 °С.

Результаты исследований и их обсуждение. Для оценки эмбрионного потенциала исследуемых сортов сои незрелые семядоли культивировали на среде для индукции соматического

эмбриогенеза в течение 42—45 дней. В результате проведенного анализа коллекции из 19 сортов культурной сои, районированных в различных эколого-географических зонах мира, было установлено, что все исследуемые сорта проявляют способность к формированию соматических эмбрионидов (рис. 1). Подсчет количества первичных соматических эмбрионидов, образовавшихся на незрелых семядолях, свидетельствовал о том, что у исследуемых генотипов уровень морфогенетического ответа значительно варьирует (от 18 до 80 % общего числа эксплантов). Наиболее высоким уровнем эмбрионного потенциала среди протестированных сортов обладал сорт *Mantherova biela vel.* — 80 %, а наименее эмбрионным оказался сорт Харбинская — 16 %.

Широкая вариабельность морфогенетического ответа каллуса сои на индукцию эмбриогенеза была продемонстрирована ранее во многих работах [11, 13, 14]. Например, при исследовании североамериканских сортов частота эмбриогенеза сорта *Continental* составляла 97 %, а у сорта PL417138 наблюдался наиболее низкий показатель — 46 % [11]. Аналогичная закономерность, но еще с большей вариабельностью частоты эмбриогенеза наблюдалась у сортов украинской селекции, где наиболее эмбрионными были сорта Марьяна — 88 % и Васильковская — 88,6 %, а наименее эмбрионным был сорт Чернобурая — 16 % [10].

В результате полученных показателей эмбрионного потенциала сортов сои, представляющих различные регионы произрастания, было установлено, что сорта, районированные на Дальнем Востоке, в целом обладали более высокими уровнями эмбрионного ответа по сравнению с сортами китайской селекции. Среди дальневосточных сортов наиболее эмбрионным являлся сорт Амурская-111 — 56 %. Для сортов же, районированных на территории Америки, характерен наименьший уровень эмбрионного ответа, значение которого не превышало 36 %. Следует отметить, что более высокий показатель эмбриогенеза — до 80 % — был обнаружен у сорта *Mantherova biela vel.*, представляющего исследованные сорта европейской селекции.

После перенесения эксплантов исследуемых генотипов на питательную среду для ини-

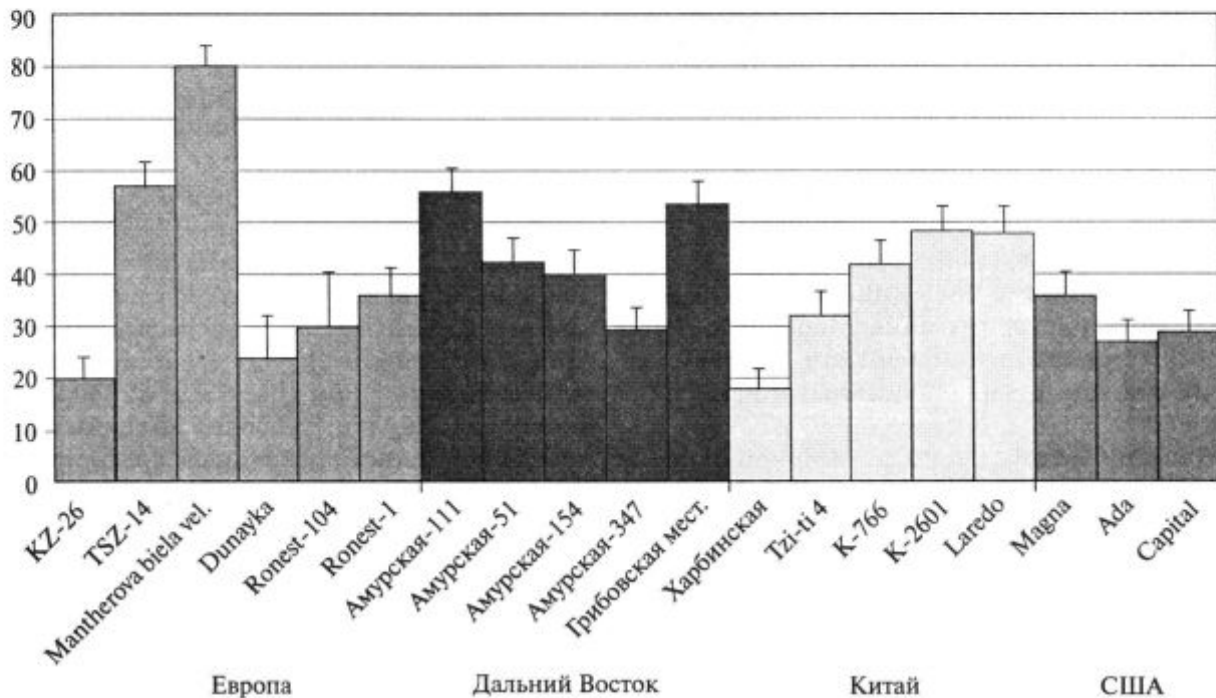


Рис. 1. Уровни эмбрионного потенциала (по вертикали, %) сортов сои, культивируемых в различных эколого-географических зонах мира

циации эмбриогенеза первые соматические эмбриониды формировались спустя 2 нед у сортов *Mantherova biela vel.* и *Амурская-111*. У других же сортов первые эмбриоглобулы образовывались на 5–7 дней позже. Для большинства сортов характерным было одновременное формирование на поверхности незрелых семядолей как незембрионной каллусной массы, так и первичных соматических эмбрионидов, на апикальной поверхности которых образовывались многочисленные вторичные эмбриониды. Подобный процесс формирования соматических эмбрионидов из апикальной меристемы предшественника иногда приводил к последовательному образованию нескольких генераций эмбриоглобул [12].

В ходе изучения закономерностей процесса формирования эмбрионидов были обнаружены значительные отличия в размерах образуемых глобул, времени пролиферации, цвете и структуре эмбрионной массы различных сортов, как было отмечено для ранее исследованных нами украинских сортов [10].

Сформировавшиеся эмбриониды у всех типов эмбриокаллусов имели различную форму: гло-

булярную, сердцеподобную, торпедовидную и трубкоподобную [14]. Среди них глобулярный тип эмбрионидов встречался наиболее часто. В соответствии с критериями, описанными нами ранее [10], среди сформировавшейся гетерогенной массы каллуса было выделено три типа эмбриокаллуса.

Первый тип эмбриокаллуса, характеризующийся образованием сплошной массы эмбрионидов, наблюдался только у сорта *Mantherova biela vel.* Типичным для второго типа эмбриокаллуса было образование смешанной массы недифференцированной ткани на поверхности эксплантов, а также больших кластеров мелких эмбриоглобул светло-зеленого цвета (рис. 2). Данный тип эмбриокаллуса был характерен для подавляющего большинства проанализированных сортов сои, особенно для сортов *Capital*, *Амурская-154*, *Laredo*, *K-766*. Согласно литературным данным сорта, образующие кластеры эмбрионных каллусов светло-зеленой окраски, отличаются наиболее высоким эмбрионным потенциалом [13]. Подобные закономерности были также отмечены нами при исследовании сортов украинс-

кой селекции; к данному типу формирования эмбрионной каллусной массы относились наиболее высокоэмбрионные сорта Марьяна и Киевская-91 [10].

Третий тип формирования эмбриокаллуса проявлялся при индукции эмбриогенеза у сорта Харбинская. Незрелые семядоли образовывали каллусную массу и очень малое количество эмбриоглобул, которые в процессе культивирования постепенно утрачивали эмбрионный потенциал, формируя неэмбрионную каллусную массу. Подобный процесс был отмечен ранее для украинского сорта Чернобурая [10].

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что эмбриоглобулы у сои способны образовываться как из ткани первичного экспланта, так и из сформировавшейся массы каллуса. В то же время в некоторых других исследованиях образование эмбриоглобул из недифференцированной белой каллусной массы не наблюдалось [14]. Возможно, подобные результаты объясняются тем, что в данной работе каллусная масса являлась старой тканью семядолей, уже инициировавшей развитие эмбриоидов. В нашем же случае подобный каллус представлял собой проэмбрионную клеточную массу, которая постоянно инициировала эмбриоиды [12].

Результаты наших наблюдений и данные других авторов [5, 15] свидетельствуют о том, что использование среды с повышенным содержанием ауксина (2,4-Д) позволяет увеличивать уровень пролиферации вследствие ингибирования гистодифференциации. Поэтому дальнейшее наращивание эмбрионных тканей осуществлялось на среде, содержащей в два раза меньшую концентрацию гормона (20 мг/л). Выбранная концентрация 2,4-Д стимулировала активное развитие вторичных эмбрионных структур из каллуса сои. В результате длительного культивирования и селективного отбора жизнеспособных эмбриоидов при последовательных пассажах нами был получен высококачественный эмбрионный каллус (рис. 3, а, б), характеристики которого соответствуют описанным в литературе [3]. Перенос соматических эмбриоидов на среду со сниженной концентрацией 2,4-Д стимулировал повторный пролифератив-

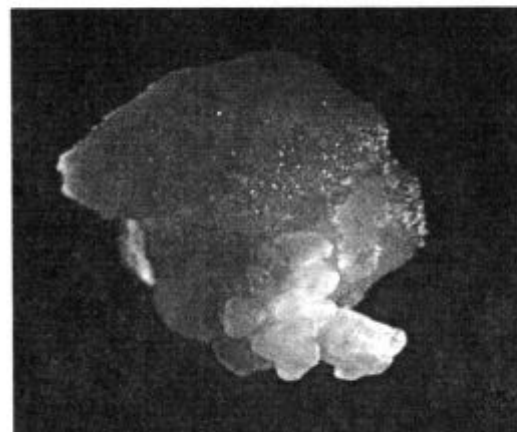


Рис. 2. Смешанный тип формирования эмбрионного каллуса сои (сорт Capital). Масштаб 1 см : 0,7 мм

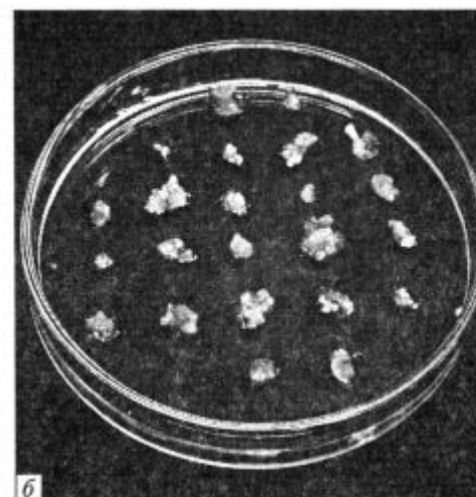
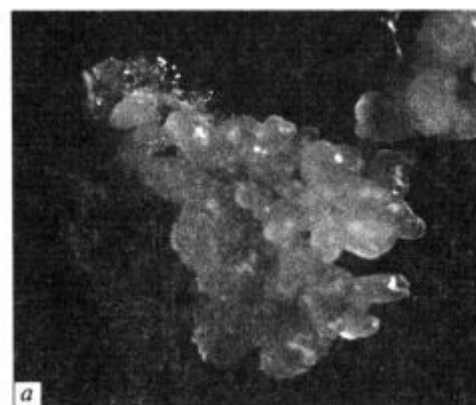


Рис. 3. Высококачественный эмбрионный каллус сорт Mantherova biela vel.: а — масштаб 1 см : 0,7 мм; б — масштаб 1 см : 1,38 см

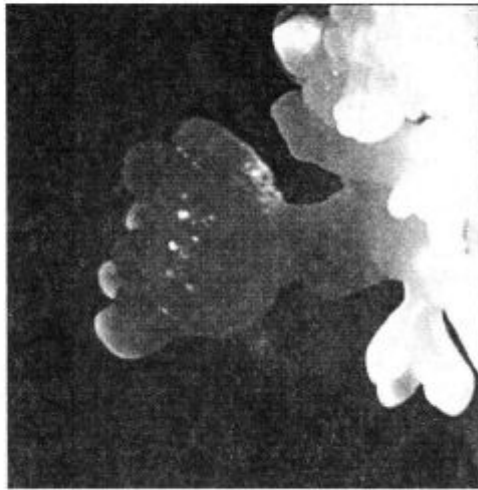


Рис. 4. Многочисленные вторичные эмбриониды, берущие начало из первичного эмбриониды сои (сорт *Mantherova biela vel.*). Масштаб 1 см : 0,45 мм

ный эмбриогенез (образование вторичных соматических эмбрионидов) из апикальной поверхности первичных соматических эмбрионидов (рис. 4). Впервые же это явление было описано в работе Финера и соавт. [12]. Вторичные соматические эмбриониды, сформировавшиеся на поверхности первичных эмбрионидов, развивались небольшими кластерами. Подобные закономерности развития эмбрионидов, прослеживаемые у сортов *Mantherova biela vel.*, Амурская-111, Грибовская местная, К-2601 и некоторых других, отмечались нами ранее при изучении закономерностей таких украинских сортов, как Васильковская [10].

В ходе оценки эмбриогенного потенциала сортов сои, районированных в различных эколого-географических зонах мира, нами было отмечено несколько закономерностей. Во-первых, эмбриогенная каллусная масса сои развивалась дифференцированно, постоянно иницируя развитие новых эмбриогенных структур и одновременно формируя вторичные структуры. Во-вторых, количество сформировавшихся соматических эмбрионидов, приходящихся на один эксплант, значительно варьировало среди различных генотипов сои, а сорта с наиболее эмбриогенным потенциалом инициировали большее количество соматических эмбрионидов, приходящихся на одну незрелую семядолю [15]. В-третьих, нами была зафиксирована способность к формированию нескольких ге-

нераций глобул, развивающихся из первичного эмбриониды сои. Аналогичное явление было описано в литературе ранее [5], а также наблюдалось нами при исследовании украинских сортов [10].

Подобное варьирование уровней морфогенетического ответа у исследованных сортов сои можно объяснить влиянием генотипа на индукцию соматического эмбриогенеза из незрелых семядолей. Согласно имеющимся данным генотип растения является ключевым фактором, влияющим на степень проявления эмбриогенного потенциала [2, 3, 14, 15]. Тем не менее следует помнить, что помимо генотипа на частоту индукции эмбриогенеза могут оказывать влияние внешние факторы, такие как интенсивность света, фотопериод и температура.

Многие авторы [14, 16, 17] связывают частоту индукции эмбриогенеза с реакцией растений на смену эколого-географической зоны выращивания, однако данное предположение не всегда находит подтверждение [18].

При продолжительном культивировании эмбриогенного каллуса (4–6 мес) нам удалось установить, что сорта *Laredo*, *К-766*, *Mantherova biela vel.* способны длительное время сохранять эмбриогенные свойства в культуре *in vitro*. Также было замечено, что у большей части изучаемых сортов каллус постепенно утрачивал эмбриогенный потенциал и четко проявлял признаки старения культуры, выражавшиеся в побурении тканей, резком снижении количества вновь образованных эмбриоглобул. При этом более зрелые эмбриониды приобретали желтовато-коричневый цвет и в ходе дальнейшего отмирания становились молочно-белыми. Было показано, что при последовательных пассажах эмбриогенный каллус может проявлять различную способность к пролиферации. В случае одного пассажа каллус мог активно делиться и образовывать множественные эмбриониды, тогда как в другом случае часть эмбриогенного каллуса могла формировать неэмбриогенную каллусную массу или отмирать [18]. Подобное явление было описано Финером и соавт. [13], показавшими, что активно растущие эмбриониды отличаются своей окраской от более зрелых эмбрионидов, прекративших дальнейшую пролиферацию.

При этом как вновь сформированные, так и более зрелые глобулы физиологически остаются незрелыми эмбриоидами. Данные морфологические признаки могут проявляться по-разному у исследуемых сортов. Так, при длительном нахождении в культуре *in vitro* эмбриониды сортов Magna и Васильковская проявляли тенденцию к быстрому побурению и отмиранию тканей, тогда как у сорта Амурская-347 каллус почти не приобретал бурого оттенка, но постепенно утрачивал эмбриогенный потенциал, формируя неэмбриогенную массу.

Последующую регенерацию растений сои проводили в несколько этапов. Для этого были отобраны сорта, которые обладали высоким эмбрионным потенциалом и сохраняли данное свойство в течение длительного времени содержания в культуре *in vitro*. Со времени первого сообщения о регенерации сои посредством соматического эмбриогенеза [19] появилось много работ, посвященных оптимизации данного процесса для достижения наибольшего процента регенерируемых растений [3, 5, 7, 11, 13].

В нашей работе мы применяли методику, разработанную Байли и соавт. [11]. На начальном этапе экспланты помещали на среду МСМбАК, способствующую гистодифференциации эмбриоидов. По истечении 4 нед эмбриониды, находящиеся в стадии семядоли с четко определенными полюсами роста корней и побегов, переносили на среду МСМб для дальнейшего развития (рис. 5). К концу первого месяца содержания на регенерационной среде соматические эмбриониды развивались от глобулы, проходя стадию гистодифференциации, до хорошо развитых семядолей и побегов, единичные из которых формировали корни. В течение второго месяца культивирования значительных морфологических изменений не происходило, однако цвет эксплантов изменялся со светло-зеленого на желтовато-белый [5]. В среднем экспланты достигали размеров 1 см. Далее молодые побеги подвергали обезвоживанию путем помещения в пустые чашки Петри на 48 ч [5]. После прохождения стадии обезвоживания часть эксплантов приобретала розоватый оттенок. Согласно результатам наших наблюдений этот этап существенно уве-

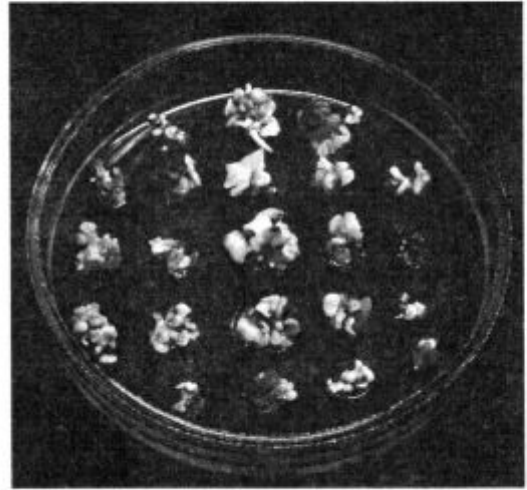


Рис. 5. Многочисленные развивающиеся побеги, произрастающие из компактного каллуса (сорт Амурская-51). Масштаб 1 см : 1,4 см

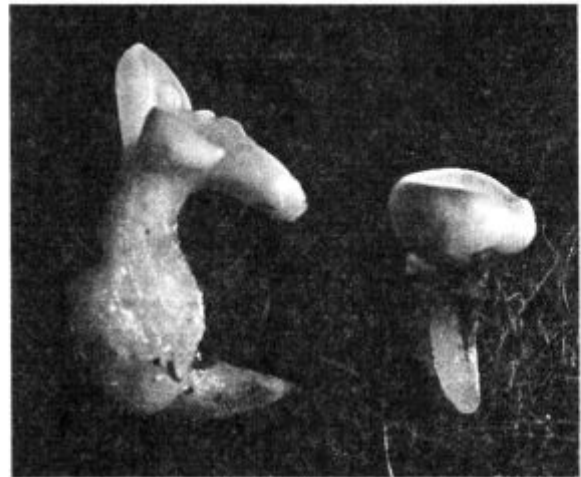


Рис. 6. Экспланты сои после 48 ч обезвоживания (сорт К-766). Масштаб 1 см : 1,0 мм

личивает уровень пролиферации эмбриоидов, что соответствует ранее полученным данным [5]. Обезвоженные экспланты переносили на безгормональную среду МСО для дальнейшей регенерации (рис. 6).

Таким образом, анализ эмбрионного потенциала ряда сортов сои, районированных на Дальнем Востоке, в Китае, США и Европе, позволил выявить несколько сортов с достаточно высоким уровнем эмбрионного потенциала — *Mantherova biela vel.*, TSZ-14, Грибовская местная. В результате проведенных исследований была также определена группа

сортів, що зберігають високу ступінь проліферативного ембріогенезу при тривалому культивуванні в умовах *in vitro*: Mantherova biela vel., Laredo, K-766, Амурская-111, K-2601, Амурская-51, Ronest-1. На основі проведених експериментів можна зробити висновок, що сорти, районированні на Дальньому Сході та в Європі, можуть представляти потенціальний інтерес для подальшого скринінгу генотипів з метою виявлення сортів, що володіють високими показателями ембріогенезу.

Отримані дані про показники ембріогенезу при порівнянні з результатами раніше проведеного нами скринінгу сортів української селекції дозволяють зробити висновок, що сорт Mantherova biela vel., що володіє найвищим ембріогенним потенціалом серед сортів, районированих на Дальньому Сході, в Китаї, США та в Європі, є найбільш перспективним для подальших робіт по генетичній трансформації сої наряду з кращими сортами української селекції.

SUMMARY. Embryogenic potential of 19 soybean cultivars originated from different eco-geographic regions (Europe, China, America and Far East) has been established and analyzed. Cultivars TSZ-14, Amurskaja-111, Gribovskaja mestnaja were emphasized as highly embryogenic genotypes. Cultivar Mantherova biela vel. revealed the highest embryogenic potential (80 %). The comparison of embryogenic potential of the Ukrainian cultivars with given data indicated various parameters which could affect the induction of soybean somatic embryogenesis. It had also been supposed that cultivars from the Far East and Europe could have the potential for further screening of new highly embryogenic genotypes. The data obtained enlarge the data base pool of the soybean somatic embryogenesis research and enable using the most appropriate cultivars for further genetic improvement.

РЕЗЮМЕ. Отримано ембріогенні калуси 19 сортів сої, що походять з різних еколого-географічних регіонів світу (Європа, Америка, Китай та Далекий Схід), а також серед проаналізованих генотипів виявлено сорти з високими показниками ембріогенезу: TSZ-14, Амурская-111, Грибовская местная. Крім цього, сорт Mantherova biela vel. було ідентифіковано як генотип, що має найбільш високий ембріогенний потенціал (80 %). Проведено порівняльну характеристику отриманих даних з аналогічними показниками у сортів української селекції та визначено різні фактори, які

впливають на індукцію соматичного ембріогенезу. Також висловлено припущення, що сорти сої, районировані на Далекому Сході та у Європі, становлять найбільший інтерес для проведення подальшого скринінгу сортів, спрямованого на виявлення генотипів з високим ембріогенним потенціалом. Отримані результати доповнюють пул даних по вивченню явища соматичного ембріогенезу у різних генотипів сої та дозволяють використовувати найкращі сорти сої для подальших генно-інженерних маніпуляцій.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Finer J.J., Cheng T.-S., Verma D.P.S.* Soybean transformation: technologies and progress // *Soybean Genetics, Molecular Biology and Biotechnology* / Eds D.P.S. Verma, R.C. Shoemaker. — CAB International, 1996. — P. 249—261.
2. *Hazel C.B., Klien T.M., Anis M., Wilde H.D., Parrot W.A.* Growth characteristics and transformability of soybean embryogenic cultures // *Plant Cell Rep.* — 1998. — 17. — P. 765—772.
3. *Samoylov V.M., Tucker D.M., Thibaud-Nissen F., Parrot W.A.* A liquid-medium-based protocol for rapid regeneration from embryogenic soybean cultures // *Plant Cell Rep.* — 1998. — 18. — P. 49—54.
4. *Simmonds D.H., Donaldson P.A.* Genotype screening for proliferative embryogenesis and biolistic transformation of short-season soybean genotypes // *Plant Cell Rep.* — 2000. — 19. — P. 485—490.
5. *Droste A., Leite P.C.P., Pasquali G., Mundstock E.C., Bondanese-Zanettini M.H.* Regeneration of soybean via embryogenic suspension culture // *Sci. Agric.* — 2001. — 58. — P. 240—248.
6. *Parrott W.A., Williams E.G., Hildebrand D.F., Collins G.B.* Effect of genotype on somatic embryogenesis from immature cotyledons of soybean // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* — 1989. — 16. — P. 15—21.
7. *Lazzeri P.A., Hildebrand D.F., Collins, G.B.* A procedure for plant regeneration from immature cotyledon tissue of soybean // *Plant. Mol. Biol. Rep.* — 1985. — 3. — P. 160—167.
8. *Murashige T., Skoog F.* A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures // *Physiol Plant.* — 1962. — 15. — P. 473—497.
9. *Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K.* Nutrient requirements of soybean root cells // *Exp. Cell Res.* — 1968. — 50. — P. 151—158.
10. *Пахомов А.В., Емец А.И., Ху Ч.-Е., Блюм Я.Б.* Оценка эмбриогенного потенциала сортов сои, районированных в зоне украинских Лесостепи и Полесья как необходимый этап для их дальнейшей трансформации // *Цитология и генетика.* — 2004. — 38, № 1. — С. 49—54.
11. *Bailey M.A., Boerma H.R., Parrott W.A.* Genotype effects on proliferative embryogenesis and plant regener-

- ation of soybean // *In Vitro Cell Dev. Biol.* — 1993. — 29. — P. 102–108.
12. *Finer J.* Apical proliferation of embryogenic tissue of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] // *Plant Cell Rep.* — 1988. — 7. — P. 238–241.
 13. *Finer J.J., Nagasawa A.* Development of an embryogenic suspension culture of soybean [*Glycine max* Merrill] // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* — 1988. — 15. — P. 125–136.
 14. *Komatsuda T., Ohyama K.* Genotypes of high competence for somatic embryogenesis and plant regeneration in soybean *Glycine max* // *Theor. Appl. Genet.* — 1998. — 75. — P. 695–700.
 15. *Tian L.N., Brown D.W.C., Voldeng H., Webb J.* *In vitro* response and pedigree analysis for somatic embryogenesis of long-day photoperiod adapted soybean // *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* — 1994. — 36. — P. 269–273.
 16. *Parrot W.A., Stewart C.N.* Possible factors affecting fertility of soybean plants from transgenic embryogenic cultures // *In Vitro Cell Dev. Biol.* — 1995. — 31. — P. 29A.
 17. *Bailey M.A., Boerma H.R., Parrott W.A.* Genotype-specific optimisation of plant regeneration from somatic embryos of soybean // *Plant Sci.* — 1993. — 93. — P. 117–120.
 18. *Collins G.B., Meurer C.A., Dinkins R.D.* Embryogenic response of multiple soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivars across three locations // *In Vitro Cell Dev. Biol.* — 2001. — 37. — P. 62–67.
 19. *Cristianson M.L., Warnick D.A., Carlson P.S.* A morphologically competent soybean suspension culture // *Science.* — 1983. — 222. — P. 632–634.

Поступила 30.04.05