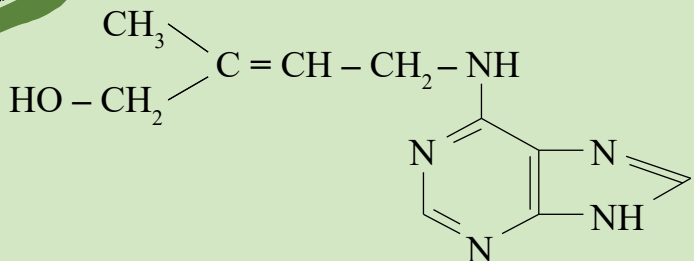


Н.П. ВЕДЕНИЧОВА  
І.В. КОСАКІВСЬКА

# ЦИТОКІНІНИ ЯК РЕГУЛЯТОРИ ОНТОГЕНЕЗУ РОСЛИН ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗРОСТАННЯ



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БОТАНІКИ ім. М.Г. ХОЛОДНОГО

**Н.П. Веденичова**  
**І.В. Косаківська**

**ЦИТОКІНИНИ ЯК РЕГУЛЯТОРИ  
ОНТОГЕНЕЗУ РОСЛИН ЗА РІЗНИХ  
УМОВ ЗРОСТАННЯ**

Київ 2017

УДК 581.143:577.175.1

**Веденичова Н.П., Косаківська І.В.**

**Цитокиніни як регулятори онтогенезу рослин за різних умов зростання. –**

Київ: Наш формат, 2017. – 200 с.: іл. 26, табл. 18. – Бібліогр.: 594 джерела.

У монографії узагальнено результати багаторічних досліджень авторів та літературні дані щодо ролі цитокинінів у регуляції росту й розвитку рослин різної систематичної належності впродовж онтогенезу за різних умов існування. Окремий розділ присвячено опису речовин цитокинінової природи у грибів. Представлено сучасний погляд на біосинтез, метаболізм, транспорт цитокинінів, рецепцію та трансдукцію цитокинінових сигналів. Наведено відомості про участь цитокинінів у формуванні адаптації рослин до дії стресових чинників. Особливу увагу приділено вивченню взаємодії цитокинінів з іншими фітогормонами, зокрема з АБК.

**Vedenicheva N.P., I.V. Kosakivska.**

**Cytokinins as regulators of plant ontogenesis under different growth conditions. -**

Kyiv: Nash Format, 2017. 200 pp.: ill. 26, Tables 18, 594 sources of literature.

The monograph summarizes the authors' findings resulting from long-term studies and literature data concerning the role of cytokinins in the regulation and development of plants of various taxonomic groups at different ontogenesis stages and under different conditions of existence. A separate section is focused on the description of substances of the cytokinin nature in fungi. A modern view of cytokinins biosynthesis, metabolism, transport, reception, and transduction of cytokinin signals is given. Data on cytokinins involvement in the formation of plant adaptation to stress factors are presented. Special attention is paid to studies on interaction of cytokinins with other phytohormones, in particular with ABA.

Відповідальний редактор

доктор біологічних наук, професор, академік НААН України

**М.М. МУСІЄНКО**

Рецензенти

доктор біологічних наук, професор, чл.-кор. НАН України С.Л. КОРДІОМ

доктор біологічних наук, професор Ю.Є. КОЛУПАЄВ

Затверджено до друку вченою радою

Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України

**ISBN 978-966-02-8256-8**

© Інститут ботаніки  
ім. М.Г. Холодного НАНУ, 2017

# ЗМІСТ

<b>Вступ</b> .....	5
<b>Глава 1.</b> Загальна характеристика цитокінінів, їхній біосинтез, метаболізм і транспорт .....	8
<b>Глава 2.</b> Рецепція та трансдукція цитокінінових сигналів .....	27
<b>Глава 3.</b> Розповсюдження та еволюція цитокінінів .....	35
<b>Глава 4.</b> Цитокініни грибів .....	40
<b>Глава 5.</b> Роль цитокінінів в онтогенезі рослин .....	45
5.1. Цитокініни спорових рослин .....	45
5.2. Локалізація і функції цитокінінів у вегетативних органах квіткових рослин .....	52
5.3. Регуляція репродуктивного розвитку рослин цитокінінами. . .	64
<b>Глава 6.</b> Участь цитокінінів у формуванні адаптації рослин до дії стресових чинників .....	84
<b>Глава 7.</b> Цитокініни в органах рослин за різних умов зростання .....	108
<b>Глава 8.</b> Взаємодія цитокінінів з іншими фітогормонами або множинна гормональна регуляція .....	117
<b>Глава 9.</b> Вплив регуляторів росту на баланс цитокінінів у рослин за різних умов вирощування .....	127
<b>Заключення</b> .....	145
<b>Література</b> .....	150

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

DHZ	– дигідрозеатин
IP	– ізопентеніладенін
IPA	– ізопентеніладенозин
<i>t-Z</i>	– <i>транс</i> -зеатин
<i>c-Z</i>	– <i>цис</i> -зеатин
ZOG	– зеатин-О-глюкозид
ZR	– зеатинрибозид
АБК	– абсцизова кислота
АМФ	– аденозинмонофосфат
АДФ	– аденозиндіфосфат
АТФ	– аденозинтрифосфат
ГМБДФ	– гідроксиметілбутенілдіфосфат
2,4-Д	– 2,4-дихлорфеноксіоцтова кислота
ДМАФФ	– діметілалілдіфосфат
ІОК	– індоліл-3-оцтова кислота
НУК	– нафтилоцтова кислота
ТРНК	– транспортна рибонуклеїнова кислота
ФАР	– фізіологічно активні речовини
АНК	– сенсорна гістидинкіназа
ARR	– білки – регулятори відповіді
СКХ	– цитокінінооксидаза
СУР735А	– цитохром Р450 монооксидаза
НР	– білки-фосфотрансмітери
ІРТ	– ізопентенілтрансфераза
LOG	– цитокінін-специфічна фосфорібогідролаза «LONELY GUY»
PUP	– пуринова пермеаза

## ВСТУП

Послідовність перебігу стадій морфо- й онтогенезу, інтеграція ростової активності окремих органів у цілісну скоординовану систему, збалансування донорно-акцепторних відносин, здійснення репродукції, зв'язок із зовнішнім середовищем – усі ці надскладні процеси, які забезпечують життєдіяльність рослин, відбуваються під контролем багатокomпонентних регуляторних систем. Вивчення й з'ясування закономірностей функціонування таких систем належить до фундаментальних завдань сучасної біології. Гормональна складова загальної рослинної регуляторики представлена низькомолекулярними сполуками, котрі як продукти метаболізму синтезуються в невеликих кількостях у певних частинах організму і проявляють фізіологічну активність, транспортуючись в інші. Вони забезпечують взаємодію клітин, тканин і органів, є тригерами і регуляторами фізіологічних програм (Холодний, 1939; Сабинин, 1963; Полевой, 1982). Можливість керувати процесами росту і репродукції рослин за допомогою невеликих концентрацій органічних сполук спонукала величезну увагу науковців до вивчення фітогормонів. Незважаючи на існування значного фактичного матеріалу з різних напрямків фітогормонології, цілісної картини функціонування гормональної системи до цього часу не запропоновано. Досі залишаються нез'ясованими питання зв'язку між вмістом фітогормонів і регуляцією процесів поділу та розтягування клітин, інтенсивністю ростових процесів у рослині в цілому, остаточно не визначено локалізацію біосинтезу фітогормонів. Залишаються обмеженими відомості щодо гормональної регуляції різних типів росту рослин.

Складовим компонентом гормонального комплексу є цитокініни – фітогормони, які задіяні в регуляції процесів росту й розвитку органів рослин. Вони контролюють поділ клітин, стимулюють утворення та активність меристем пагонів,

формують атрагуючу спроможність тканин, затримують процес старіння листків, інгібують ріст та галуження кореня, беруть участь у регуляції процесу проростання насіння та формуванні відповіді на стресові впливи тощо (Ha et al., 2012; El-Showk et al., 2013; Jameson, Song, 2016; Zürcher, Müller, 2016). До класу цитокінінів належать похідні аденіну, сполуки близькі за структурою, але з різною біологічною активністю і нерівнозначними функціями. Молекули гормону з певними варіаціями структури бічного ланцюга, вірогідно, медіують різні біологічні сигнали: на сьогодні припускають участь *транс*-зеатину та ізопентеніладеніну в передачі довгодистанційних сигналів в акро- та базипетальному напрямках відповідно (Романов, 2009). Значного прогресу досягнуто в дослідженні молекулярних механізмів дії цитокінінів. Ідентифіковано ферменти, задіяні в їхньому біосинтезі, мембранні рецептори, гени первинної відповіді та основні елементи сигнальної трансдукції (Frébert et al., 2011; Hwang et al., 2012; Kieber, Schaller, 2014).

Незважаючи на великий обсяг фактичного матеріалу, механізм регуляторної дії цитокінінів у ростових процесах рослин у нормі і при стресах остаточно не з'ясовано, що свідчить про його складність і багатокomпонентність. Певні протиріччя й розбіжності отриманих у різних лабораторіях результатів пояснюються тим, що часто як при плануванні дослідів, так і при інтерпретації даних дослідники не враховують видо- і тканинспецифічність гормональної дії, а також існування тісних взаємозв'язків між усіма компонентами гормональної системи рослин. Крім того, не виключено, що використання генетично модифікованих організмів для вивчення механізмів дії цитокінінів може призводити до формулювання хибних висновків, оскільки мутанти інколи демонструють несподівані фізіологічні прояви, які суперечать загальноприйнятим

уявленням про функції цитокинінів (Werner, 2003; Riefer et al., 2006).

Взаємовплив фітогормонів, перехрещування їхніх біосинтетичних і сигнальних шляхів (Munne-Bosh, Muller, 2013; O'Brien, Benkova, 2013; Yang et al., 2014) демонструють певну нефізіологічність досліджень, у яких застосовуються екзогенні гормони або мутанти з дефіцитом чи гіперсинтезом різних гормонів, адже зміни вмісту одного гормону спричиняють перетворення у метаболізмі інших, що в свою чергу впливає на рівень і функціонування вихідного фітогормону, а також запускає серію подій, не характерних *in planta*. Замкнута кільцева система координації та перехрещування сигнальних і метаболічних шляхів сформувалася еволюційно для підтримання гормонального гомеостазу і стабільності регуляторики, проте вона суттєво перешкоджає вивченню функцій окремих гормонів.

Тому проведення класичних досліджень якісного складу та кількісного вмісту ендогенних цитокинінів в органах рослин на різних стадіях росту та розвитку, порівняння цих показників зі швидкістю й спрямованістю росту та морфологічними показниками є найбільш прийнятним і навіть ідеальним, на думку деяких авторів (Tarkowská et al., 2014), для з'ясування органоспецифічності дії цих фітогормонів, виокремленню їхньої ролі у функціонуванні гормональної системи та участі в регуляції процесів росту, розвитку й формуванні механізмів стійкості рослин.

Виходячи з вищесказаного, у своїх намаганнях узагальнити сучасні уявлення про цитокиніни як регулятори онтогенетичного розвитку рослин автори монографії спиралися головним чином на результати вивчення ендогенних цитокинінів, порівнюючи їх з усіма наявними відомостями з цього питання.



## ГЛАВА 1

### ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ЦИТОКІНІНІВ, ЇХНІЙ БІОСИНТЕЗ, МЕТАБОЛІЗМ І ТРАНСПОРТ

Організм рослин є складною багатокомпонентною системою, що об'єднує диференційовані за будовою і функціями органи, взаємодія яких оптимізує процеси метаболізму і розвитку, дозволяє адаптуватися до оточуючого середовища та самовідтворюватися. Інтеграція фотосинтезуючих та нефотосинтезуючих, вегетативних та репродуктивних органів рослин відбувається за допомогою локальних та довгодистанційних сигнальних систем, серед яких чи не найважливішою є гормональна. Фітогормони – природні речовини невеликої молекулярної маси, які синтезуються у рослинних тканинах у малих кількостях, здатні в організмі транспортуватися в інші органи, діючи як регулятори і координатори росту, розвитку й адаптації. За хімічною будовою та фізіологічними функціями виділяють 5 груп класичних фітогормонів (ауксини, цитокініни, гібереліни, абсцизова кислота й етилен). Існує ряд природних речовин (поліаміни, брасиностероїди, поліаміни, жасмонати, олігосахариди, поліпептиди, саліцилова кислота, стриголактони та ін.), які діють подібно фітогормонам і розглядаються як фітогормони. Практично вся життєдіяльність рослини знаходиться під контролем цих речовин, вони запускають і регулюють всі без виключення життєві програми. Існує тісний взаємозв'язок і між окремими фітогормонами, вони діють комплексно, регуляторні функції залежать від певного балансу як гормонів різних класів, так і співвідношення метаболічних форм гормонів одного класу (El-Showk et al., 2013).

Фітогормонам притаманна поліфункціональність. Спектр дії кожного з них, як правило, дуже широкий, але пов'язаний

з певним напрямком розвитку рослини, що дає змогу умовно розділити їх на стимулятори й інгібітори.

Серед класичних гормонів стимулюючої дії останніми були відкриті цитокиніни. Вперше речовину, яка стимулювала поділ клітин у культурі паренхімних тканин тютюну, було виділено з автоклавованих препаратів ДНК сперми оселедцю в 1955 р. в лабораторії Ф. Скуга і К. Міллера (США) (Miller et al., 1955). Здатність стимулювати цитокінез відображено в її назві – кінетин, а пізніше і в назві всієї групи подібних речовин – цитокиніни. Перший природний цитокинін зеатин у рослин виділено групою Д. Литамма (Австралія) в 1963 р. Для отримання 1 мг зеатину знадобилося 70 кг незрілих зернівок кукурудзи (Letham et al., 1963). Подальше накопичення дослідного матеріалу відбувалося досить стрімко, і вже за 10 років його було настільки багато, що почали з'являтися монографії, присвячені саме цитокинінам (Кулаєва, 1973). Слід відзначити, що перші два десятиріччя методи дослідження цих гормонів базувалися, головним чином, на біотестуванні та екзогенній обробці рослин. Пізніше, в 80–90-х рр. ХХ сторіччя було розроблено прецизійні методи з використанням приладів високого розділення (рідинна хроматографія високого тиску, газова хроматографія, мас-спектрометрія та ін.), які давали значно достовірніший результат, але були вельми трудомісткими і потребували великої кількості рослинного матеріалу для обробки. Проте саме в цей період було отримано найбільш вагомі дані щодо ендогенних цитокинінів у широкого кола рослин різної таксономічної належності, їхньої динаміки в онтогенезі, встановлені корелятивні зв'язки з широким колом фізіологічних процесів, остаточно визначені функції та спектр дії. Перехід до нового тисячоліття відзначився масовим застосуванням молекулярно-біологічних методів і генетично модифікованих рослин. Було ідентифіковано гени, задіяні в біосинтезі, метаболізмі, рецепції та сигналінгу цитокинінів.

Значного прогресу було досягнуто у вивченні механізмів дії цих гормонів на внутрішньоклітинному та організменному рівнях. Незважаючи на значні успіхи і величезний обсяг фактичного матеріалу, залишається ще дуже багато невирішених питань і білих плям у розумінні функціонування цитокінінів, тому дослідження місця гормонів цитокінінової природи у загальному контексті гормональної регуляції росту й розвитку рослин не втрачають своєї актуальності та продовжують привертати увагу фізіологів рослин.

З точки зору хімії природні цитокініни є похідними аденіну з ізопреноїдним або циклічним боковим ланцюгом у N<sup>6</sup>-положенні (рис. 1), причому перші переважають у рослинному царстві (Sakakibara, 2006).

За модифікацією бічного ланцюга молекули у R<sub>1</sub>-положенні (рис. 1) вирізняють 4 основних типи ізопреноїдних цитокінінів: ізопентеніладенін (немодифікований бічний ланцюг), дигідрозеатин (насичений подвійний зв'язок у бічному ланцюгу), *цис*- і *транс*-зеатин (стереоізомери з гідроксильованим бічним ланцюгом). При зв'язуванні бічного ізопентенільного ланцюгу з глюкозним залишком утворюються О-глюкозиди. До цитокінінів з ароматичним бічним ланцюгом відносять бензіладенін, кінетин і тополін. Крім того, існує 7 модифікацій пуринового кільця аденіну в R<sub>2</sub>-положенні (рис. 1): приєднання залишку рибози в N<sup>9</sup>-позиції (рибозиди), моно-, ді- та трифосфати рибозидів (рибонуклеотиди), приєднання глюкозного залишку в N<sup>7</sup>- та N<sup>9</sup>-позиції (N-глюкозиди). На рис. 2 представлені хімічні формули поширених природних і синтетичних цитокінінів.

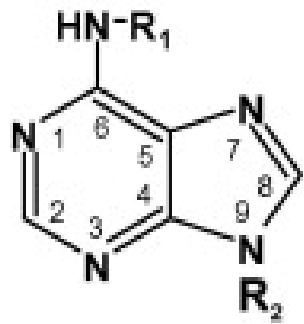


Рис. 1. Структурна основа цитокінінів

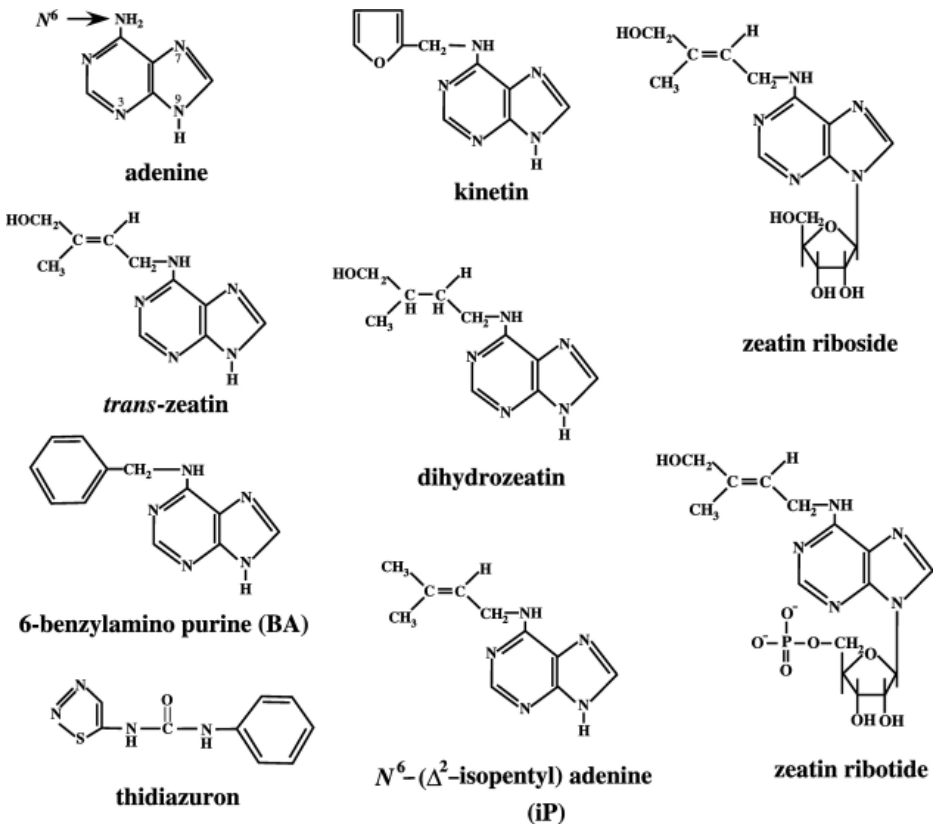


Рис. 2. Хімічні формули найбільш поширених природних і синтетичних цитокінінів

Цитокінінова активність притаманна також ряду синтетичних речовин, зокрема похідним фенілсечовини, серед яких найбільш відомий тїдазурон (рис. 2) (Shudo, 1994).

Концентрація цитокінінів у клітинах і тканинах залежить від швидкості їхнього біосинтезу, метаболізму, інактивації та деградації, на співвідношення яких впливають внутрішні та зовнішні фактори (Stirk, Van Staden, 2010). Цитокініни знаходять також у складі тРНК багатьох груп живих організмів, при розкладанні якої вони вивільняються. Але у рослин тРНК не є суттєвим джерелом цитокінінів, біосинтез цих гормонів

відбувається іншим шляхом (Kamada-Nobusada, Sakakibara, 2009).

Ізопреноїдні цитокініни у рослин синтезуються приєднанням до аденинової молекули, що утворюється при розпаді аденозин-5-фосфатів (АТФ, АДФ й АМФ) і тРНК, ізопреноїдного залишку, донором якого може бути або діметилалілдіфосфат (ДМАФФ), або гідроксиметілбутенілдіфосфат (ГМБДФ). У першому випадку утворюється нуклеотид ізопентеніладеніну, який потім гідроксилюється цитохром Р450 монооксидазою (СУР735А) до *транс*-зеатину (Takei et al., 2004a), у другому – продуктом синтезу є безпосередньо *транс*-зеатин (Sakakibara et al., 2005). Перший шлях біосинтезу, ізопентеніладенін-залежний, ще називають мевалонатним шляхом, оскільки ДМАФФ – метаболіт мевалонової кислоти, зазвичай присутній у цитозолі всіх еукаріотів. Цей шлях функціонує не тільки у рослин, але й у тварин, грибів і бактерій, локалізований в цитоплазмі й мітохондріях і відповідальний за біосинтез попередників стеролів, певних сесквітерпенів та убіхінону, тобто перетинається з біосинтезом інших фітогормонів (гіберелінів, АБК) (Laule et al., 2003). Другий шлях – метилеритрітолфосфатний, ізопентеніладенін-незалежний або прямий, локалізований у пластидах, він задіяний у продукуванні терпеноїдів, каротиноїдів, хлорофілів, пластохінону (Hwang, Sakakibara, 2006).

У вищих рослин головним первинним продуктом біосинтезу є неактивний нуклеотид ізопентеніладеніну, утворення якого з АМФ і ДМАФФ каталізує фермент ізопентенілтрансфераза (ІРТ), котрий є ключовим у біосинтезі цитокінінів (Sakakibara et al., 2005). Функціонування саме мевалонатного шляху встановлено в арабідопсису, де описана родина генів, що кодують ІРТ (*AtIPT1* та *AtIPT3–AtIPT8*), субстратом якої може бути лише ДМАФФ, але не ГМБДФ (Takei et al., 2001a). Описані також два ферменти цитохром Р450 монооксидази

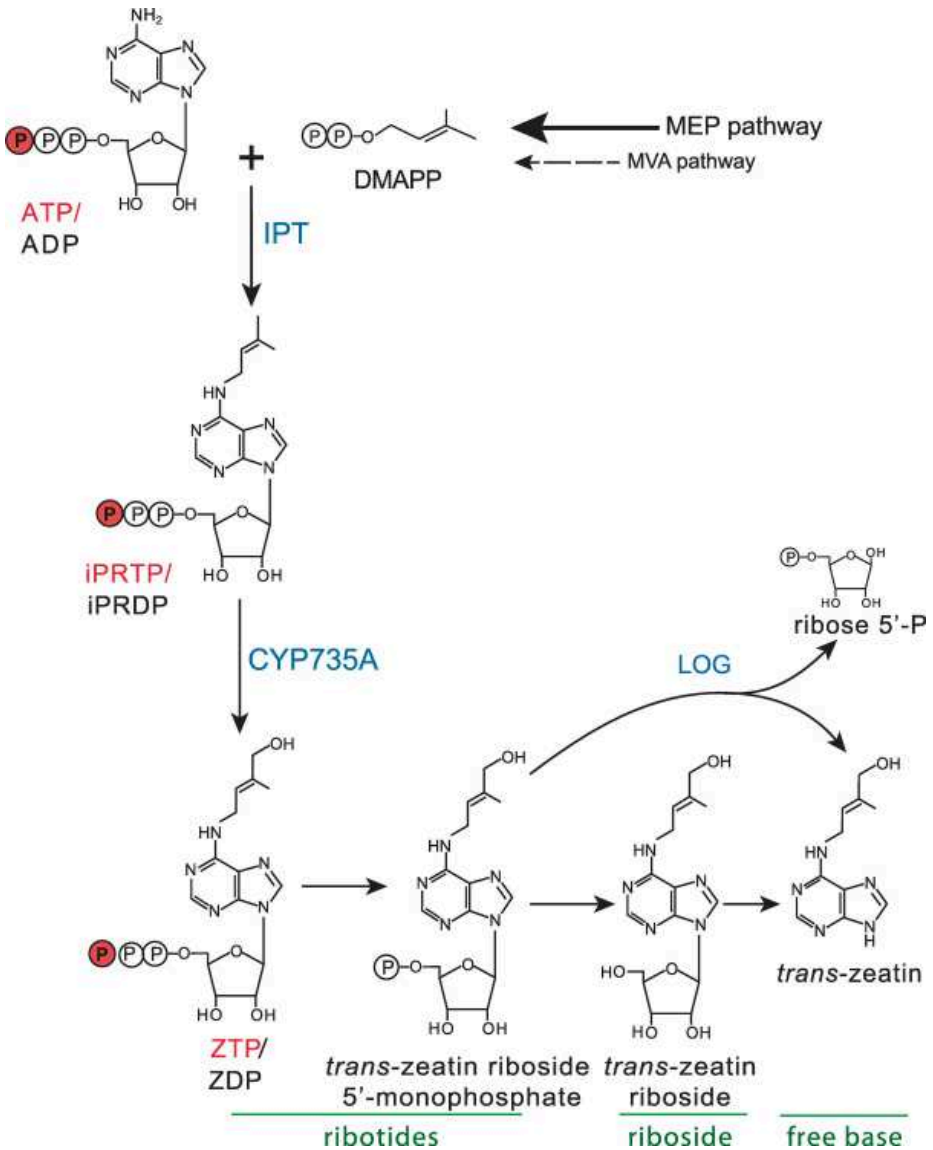


Рис. 3. Гіпотетична схема біосинтезу цитокінінів (на прикладі *Arabidopsis thaliana*: MEP pathway – метилеритритолфосфатний шлях, MVA pathway – мевалонатний шлях, DMAPP – диметілалілдіфосфат (ДМАФФ), IPT – ізопентенілтрансфераза, CYP735A – цитохром P450 монооксидаза, LOG – цитокінін-специфічна фосфорібогідролаза «LONELY GUY» (Kieber, Schaller, 2014)

і відповідні гени (*CYP735A*), які перетворюють нуклеотид ізопентеніладеніну в активний зеатин (Takei et al., 2004a). Разом з тим, існують докази прямого шляху біосинтезу цитокінінів в арабідопсису: рівень зеатину підвищувався в присутності інгібітору цитохромних ферментів (Åstot et al., 2000), мічені попередники цитокінінів було знайдено в продуктах прямого шляху біосинтезу, застосування зеленого флуоресцентного білку показало пластидну локалізацію білків AtIPT1, AtIPT3 та AtIPT5 (Kasahara et al., 2004). Питання, який шлях переважає, чи можуть обидва вони існувати паралельно і яким чином вони взаємодіють, дискутуються (Kamada-Nobusada, Sakakibara, 2009; Frébert et al., 2011). Найвірогідніше існування обох біосинтетичних шляхів, проте функціональна різниця між ними невідома. Крім того, відкриття цитокінін-специфічної фосфорібогідролази «LONELY GUY» (LOG) у мутантних рослинах рису, яка здатна безпосередньо перетворювати неактивні нуклеотидні форми в активні вільні та локально впливати на розвиток меристем пагонів (Kurakawa et al., 2007), показало можливість існування інших, ще не описаних синтетичних шляхів для цитокінінів.

Гіпотетична схема (рис. 3), яка поєднує різні шляхи біосинтезу цитокінінів та участь усіх вищезгаданих ферментів, була представлена нещодавно (Kieber, Schaller, 2014).

Слід відзначити, що до 2001 р. біосинтез цитокінінів досліджувався головним чином у мікроорганізмів *Agrobacterium tumefaciens* і *Dictyostelium discoideum*, у яких *транс*-зеатин синтезується в один етап з використанням ГМБДФ в якості донора бічного ланцюгу (Letham, Palni, 1983). У вищих рослин фермент IPT, який каталізував синтез ізопентеніладенозінмонофосфату з ізопентенілпірофосфату та АМФ, уперше було виділено в 1981 р. з культури калусних тканин тютюну (Chen, 1981). Цей фермент був дуже нестабільним, тому дослідження його припинилися. З Ti-

плазміді *A. tumifaciens* було виділено *ipt*-ген, трансформація яким спричиняла гіперсинтез цитокинінів у рослин, наприклад були отримані рослини з вічнозеленими листками (Regier, Morris, 1982). У природі інфікування цією бактерією призводить до пухлинного росту й утворення галлів. Біосинтез цитокинінів був установлений у багатьох мікроорганізмів ризосфери рослин, тому досить часто висловлювались припущення, що рослини не здатні продукувати цитокиніни, які є продуктом бактерій, тобто не можуть вважатися фітогормонами (Holland, 1997; Prinsen et al., 1997).

Тому виявлення рослинних генів біосинтезу цитокинінів в арабідопсису (Kakimoto, 2001; Takei et al., 2001a) було певною мірою революційним, оскільки з цього моменту цитокиніни правомірно стали вважати гормонами рослин. На сьогодні у геномі арабідопсису ідентифіковано 8 генів, що кодують *IPT*. Серед них єдиний *IPT2* може використовувати тРНК як субстрат, всі інші – АМФ, АДФ і АТФ. Експресія генів *IPT1*, *IPT5* і *IPT8* відбувається у пластидах, всіх інших – у цитоплазмі (Miyawaki et al., 2004). Просторова локалізація генної експресії також специфічна: *IPT1* знайдено в коренях у клітинах-попередниках флоєми, листових пазухах, сім'ябруньках, незрілому насінні і контролюється вона NO, *IPT3* – у тканинах листків, *IPT6* – у насінневих капсулах, *IPT7* – у флоємі, ендодермі зон видовження кореня, трахомах молодих листків, пилоквих трубках, *IPT8* – у флоємі, *IPT4* – в ендоспермі незрілого насіння, *IPT5* – у латеральних кореневих примордіях, кореневих волосках, зонах опадання, незрілому насінні (Murai, 2014). Визначено також 8 філогенетично подібних генів у риса (Sakamoto et al., 2006) і кукурудзи (Brugière et al., 2008). Подібний розподіл генів, що кодують ключовий фермент синтезу цитокинінів, свідчить про можливість біосинтезу цих гормонів у різних частинах рослинного організму. Раніше вважали, що ділянками синтезу цитокинінів є виключно кінчики кореня (Кулаєва, 1973), а



можливість продукування їх в інших органах (насіння, молоді листки, бруньки) висловлювалася як припущення (Иванова и др., 2001).

Дослідження метаболізму цитокинінів у рослинних тканинах проводилося за декількома напрямками. По-перше, вивчали перетворення мічених екзогенних цитокинінів, нанесених на різні органи, частини рослин або внесені в культуру тканин. По-друге, досліджували ферменти метаболізму цитокинінів. По-третє, аналізували динаміку ендогенних похідних зеатину й ізопентеніладеніну на фоні різних фізіологічних процесів з метою встановлення корелятивних зв'язків між ними. Нарешті, з використанням геномних трансформацій і мутацій аналізували морфогенез і функціонування рослин, дефіцитних за генами, що кодують метаболізм цитокинінів.

Перший напрямок широко застосовувався на початкових етапах вивчення метаболізму цитокинінів. Численними роботами було показано, що після обробки екзогенними гормонами будь-яких частин рослини радіоактивна мітка виявляється в широкому колі похідних, які були продуктами як кон'югації, так і деградації нанесеної речовини. Спектр метаболітів і напрямок перетворень залежав від виду рослини, стадії їхнього розвитку, типу органу чи тканини, умов оточуючого середовища, тривалості метаболічних процесів та інших. Результати цих досліджень, в яких було отримано основні уявлення про властивості цитокинінових метаболітів, висвітлено в оглядах (Letham, Palni, 1983; Mok, Mok, 2001). Загальний висновок, який витікає з аналізу цих робіт, – метаболізм цитокинінів є видо- та тканиноспецифічним. Такий підхід важко назвати фізіологічним, оскільки надлишок гормону рослина сприймає як стрес і намагається його нейтралізувати. Про це свідчить значно більша швидкість метаболізму екзогенних цитокинінів порівняно з ендогенними (Letham, Palni, 1983).

За функціональним значенням похідні цитокінінів можна розділити на такі групи:

- активні форми, які здатні зв'язуватися з рецептором і викликати фізіологічну відповідь;
- транспортні форми, у вигляді яких цитокініни переміщуються по рослині;
- запасні форми, які легко перетворюються на вільні активні в разі потреби;
- продукти деактивації, які утворюються для зниження рівня ендогенних цитокінінів;
- кон'югати, утворення яких пов'язано з дією цитокінінів.

До активних форм цитокінінів відносять вільні основи – зеатин й ізопентеніладенін. Упродовж тривалого часу найбільш поширеним і домінантним у вищих рослин вважався зеатин. Зважаючи на те, що концентрація ізопентеніладеніну в тканинах значно менша, і в багатьох випадках зеатин визначався як мінорний компонент цитокінінового пулу в квіткових рослинах, тоді як у нижчих рослин, особливо в мікроорганізмів, його кількість була досить високою, висловлювалося припущення, що саме він є активною формою цитокінінів у еволюційно менш розвинутих організмів (Letham, 1994). На сьогодні таку позицію переглянуто. Дослідження останніх років довели, що зеатин та ізопентеніладенін виконують специфічні сигнальні функції в рослинному організмі, й значення кожного з них не можна розглядати окремо (Романов, 2009).

З розвитком високоточних методів дослідження стало зрозумілим, що для активності зеатину важливу роль відіграє просторова структура молекули. Зеатин зустрічається у формі двох стереоізомерів – *транс*- і *цис*-зеатин. Деякий час вважалося, що *транс*-зеатин виконує основні фізіологічні функції, тоді як *цис*-зеатин є лише складовою частиною тРНК (Murai et al., 1980) і звільняється при її розкладанні (Miyawaki et al., 2006). У біотестах з використанням калусів тютюну

активність *транс*-зеатину була в 100 разів вище за *цис*-зеатин (Leonard et al., 1969). В арабідопсису *транс*-зеатин був на порядок ефективніший в інгібуванні росту первинного кореню порівняно з *цис*-формою (Kudo et al., 2012); з рецептором АНК4 реагував також *транс*-, але не *цис*-зеатин (Yamada et al., 2001). Проте дослідження останнього десятиріччя показали, що *цис*-зеатин розповсюджений у рослинному царстві широко, як і *транс*-зеатин. З'ясовано, що він є домінуючою формою у картоплі, гороху, кукурудзи, рису (Murai, 2014). Аналіз рівнів обох стереоізомерів в онтогенезі арабідопсису показав, що *транс*-зеатин превалював на стадіях активного росту рослини, тоді як переважання вмісту *цис*-зеатину спостерігалось в органах з обмеженим ростом – насінні та старіючих листках (Gajdosova et al., 2011). Функціональне значення співвідношення двох ізомерів поки що не встановлено. Фермент, який каталізує ізомеризацію *цис*-зеатина в *транс*-форму (зеатин *цис/транс*-ізомераза), описаний у квасолі (Bassil et al., 1993) і кукурудзи (Yonekura-Sakakibara et al., 2004). Можливо, перетворення цих речовин з більш активної на менш активну форму є шляхом певної швидкої деактивації зеатину.

До вільних основ належить також дигідрозеатин, молекула якого відрізняється від такої зеатину насиченим подвійним зв'язком бічного ланцюгу. Це робить його стійким до дії ферменту цитокініндегідрогази, що каталізує деградацію цитокінінів (Galuszka et al., 2007). Перетворення зеатину на дигідрозеатин було описано у квасолі (Martin et al., 1989), сої (Gaudinová et al., 2005); очищено й виділено зеатинредуктазу – фермент, який каталізує цей процес (Mok et al., 1990). Дигідрозеатин у значних кількостях визначається у насінні бобових (Martin et al., 1989; Vedenicheva et al., 1991). Але припущення щодо його ролі як запасної форми цитокінінів (Frébert et al., 2011), імовірно, хибні, оскільки в осьових органах

проростків квасолі його вміст зростав у період активного росту (Веденичева, 1990).

Крім вільних основ цитокініни можуть існувати у формі кон'югатів. Перетворення аденінового кільця на відповідні нуклеозиди та нуклеотиди відбувається за участі ферментів загального пуринового метаболізму: 5'-нуклеотидази, аденозиннуклеотидази, аденінфосфорибозілтрансферази й аденозинкінази (Мок, Мок, 2001). Найбільш поширеними є рибозиди (залишок рибози приєднується до пуринового кільця у N<sup>9</sup>-положенні). Зеатинрибозид, дигідрозеатинрибозид й ізопентеніладенозин (рибозид ізопентеніладеніну) проявляють меншу, проте все ж таки значну активність у біотестах, порівняно з відповідними вільними основами, їхня концентрація у рослинних тканинах знаходиться в таких самих межах (Кулаєва, 1973), вони швидко перетворюються на вільні форми, проте характеризуються стабільністю (Муромцев и др., 1987). Те, що рибозиди часто домінують у ксилемному соці та при екзогенному нанесенні на коріння з міткою <sup>14</sup>C виявляються у надземній частині рослини у неметаболізованому вигляді, дозволило розглядати їх як транспортні форми цитокінінів (Letham, Palni, 1983). Проте остаточно функціональну роль рибозидів не встановлено. Нуклеотиди, які утворюються при фосфорилуванні рибозидів, виявляють дуже слабку біологічну активність та, ймовірно, є проміжним продуктом в їхньому метаболізмі (Sakakibara, 2006).

Коли йдеться про кон'юговані форми цитокінінів, розглядають зазвичай не рибозиди, а глюкозиди. У N-глюкозидів залишок глюкози приєднується до пуринового кільця в N<sup>3</sup>-, N<sup>7</sup>- або в N<sup>9</sup>-, N<sup>7</sup>- та N<sup>9</sup>-положенні глюкозиди проявляють дуже низьку активність в біотестах, не впливають на ріст і розвиток рослин при екзогенному нанесенні та дуже слабо піддаються метаболічним перетворенням. Тому є підстави вважати їхнє утворення способом незворотньої деактивації цитокінінів

(Mok, Mok, 2001). N<sup>3</sup>-глюкозиди легко перетворюються на вільні основи за допомогою β-глюкозидази (Brzobohatý et al., 1993). Із сім'ядолей редиса було виділено N-глюкозилтрансферазу – фермент, задіяний у N-глюкозилуванні (Entch, Letham, 1979), а в арабідопсису знайдено 5 генів, що кодують цей фермент (Hou et al., 2004). Оверекспресія одного з них, *UGT76C2*, призводить до підвищення рівня N-глюкозидів і зниження чутливості рослин до екзогенних цитокінінів, тоді як модифікації іншого гену, *UGT76C1*, не мали жодного фізіологічного ефекту (Wang et al., 2013). Це свідчить про те, що механізм, який підтримує функціонування цитокінінів на певному рівні, має досить високу «буферну ємність» і здатний контролювати метаболізм цих гормонів та чутливість до них через експресію різних генів залежно від умов їхнього існування.

Гідроксильовані форми цитокінінів здатні утворювати O-глюкозиди (залишок глюкози приєднується до бічного ланцюгу). Цей процес каталізується ферментами O-глюкозилтрансферазою або O-ксилозилтрансферазою. Вони мають дуже чітку субстратну специфічність, використовують в якості вуглеводного донора урідиндіфосфатглюкозу та урідиндіфосфатксілозу відповідно, а в якості цитокінінового субстрату – *транс*- або *цис*-зеатин, інколи частково дигідро-зеатин (Martin et al., 2001). Гени, що кодують ці ферменти (*ZOG*), було клоновано спочатку з *Phaseolus lunatus* L. (Dixon et al., 1989) та *Phaseolus vulgaris* L. (Turner et al., 1987), а потім із багатьох інших рослин. У кукурудзи, де домінуючим цитокініном є *цис*-зеатин, функціонує специфічна *цис*-зеатин-O-глюкозилтрансфераза, чутлива лише до *цис*-форми (Veach et al., 2003). O-глюкозилування захищає бічний ланцюг молекули цитокінінів від розщеплення ферментом цитокінінооксидазою. Хоча ці кон'югати є стійкими та стабільними сполуками, вони легко розщеплюються β-глюкозидазою до активних форм, і тому проявляють високу біологічну активність у біотестах,

хоча і не сприймаються рецепторами цитокінінів (Spíchal et al., 2004). Ураховуючи ці властивості О-глюкозидів, а також їхню внутрішньоклітинну локалізацію у вакуолях, їх розглядають як запасні форми, які відіграють суттєву роль у підтриманні загального балансу ендогенних цитокінінів (Mok, Mok, 2001).

Зеатин може також зв'язуватися з амінокислотами. Кон'югат зеатину й аланіну, який називають люпиноювою кислотою, було знайдено у насінні люпину, його утворення каталізується зеатин-9-амінокарбокситетилтрансферазою (Entsch et al., 1983). Вірогідно, він, як і N-глюкозиди, є продуктом деактивації цитокінінів.

Суттєвий вплив на регуляцію належного рівня вільних цитокінінів окрім вищезгаданих ферментів спричиняє активність цитокініноксидази (СКХ), фермента, який незворотно розщеплює бічний ланцюг ізопреноїдних цитокінінів. Уперше розщеплення ізопентеніладеніну до аденіну й альдегіду за його допомогою було продемонстровано у тканинах тютюну (Račes et al., 1971). Фермент класифікували як оксидазу, оскільки довгий час вважалося, що для його активності необхідний молекулярний кисень (Hare, Van Staden, 1994). Пізніше з'ясувалося, що він може працювати і в анаеробних умовах, використовуючи в якості донора електронів інші сполуки (Galuszka et al., 2001; Frébortová et al., 2004). Тому нині цей фермент відносять до класу дегідрогеназ, проте назва цитокініноксидаза збереглася, а відповідне скорочення (СКХ) є широко вживаним. Активність СКХ була зафіксована у великій кількості видів вищих рослин, у нижчих організмів – мохів, грибів (Frébort et al., 2011), були встановлені біохімічні особливості роботи ферменту (Frébortová et al., 2010). Незважаючи на дуже низьку концентрацію білка СКХ, його було виділено в кристалічному вигляді (Bae et al., 2008). Дослідження субстратної специфічності СКХ показало, що не тільки ізопреноїдні цитокініни та їхні рибозиди, але

й N-глюкозиди та нуклеотиди ефективно розщеплюються індивідуальними ізоформами ферменту (Kowalska et al., 2010). Ізоформи СКХ відрізняються також і внутрішньоклітинною локалізацією. В арабідопсису білки *AtCKX1* і *AtCKX3* знайдено у вакуолях, *AtCKX2*, *AtCKX4*, *AtCKX5* та *AtCKX6* – в апопласті, *AtCKX7* – у цитозолі (Werner et al., 2003). Гени, що кодують СКХ, ідентифіковано у багатьох видів рослин: пшениці, кукурудзи, рису, ячменю, арабідопсису, орхідеї (Frébert et al., 2011), а також у ціанобактерій (Schmülling et al., 2003) і прокаріотичної бактерії *Rhodococcus fascians* (Pertry et al., 2010). У геномі арабідопсису присутня родина з 7 гомологічних генів, що кодують білок СКХ, через різний спосіб експресії яких на різних стадіях розвитку в різних тканинах рослин ізоформи СКХ функціонують по-різному: *AtCKX1* найбільше експресується у васкулярному циліндрі латеральних коренів, *AtCKX2* – в апексі пагонів, *AtCKX3* – у молодих тканинах пагонів, *AtCKX4* – у трихомах, прилистниках, продихах, кореновому чохлаку, *AtCKX5* – у пильниках, пилку, *AtCKX6* і *AtCKX7* – у гіноеціумі на всіх стадіях розвитку (Werner et al., 2003).

Найкраще досліджено СКХ у рису, в геномі якого знайдено 11 відповідних генів (*OsCKX1–OsCKX11*). Як і в арабідопсису, вони експресуються по-різному в різних органах. Один з них, *OsCKX2*, очевидно, є відповідальним за врожайність рису. Принаймні, більш високу кількість зернівок у високопродуктивного сорту пов'язують із вкрай низькою експресією цього гену в суцвіттях (Murai, 2014).

Надзвичайний інтерес дослідників до вивчення СКХ пов'язаний з тим, що саме завдяки мутаціям генів групи *СКХ* стало можливим досліджувати функції цитокінінів безпосередньо в рослині. Оверекспресія *СКХ* призводить до утворення цитокінін-дефіцитних рослин з незвичайним фенотипом, зміни якого підтверджують провідну роль

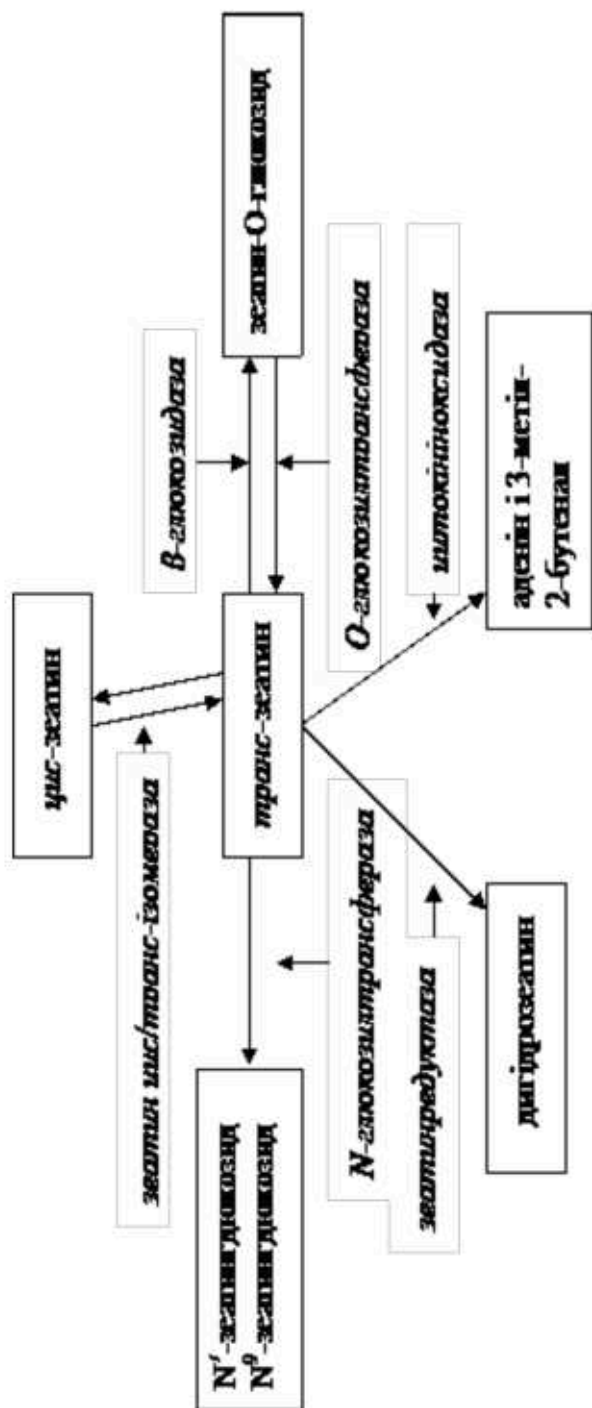


Рис. 4. Метаболічні перетворення *транс*-зеаксину в рослині. Назви ферментів, що каталізують відповідні перетворення, показані курсивом



цитокінінів у формуванні та функціонуванні меристем кореня й пагону, а також у створенні локальних атрагуючих центрів (Werner et al., 2003).

Можливі метаболічні перетворення основного цитокініну рослин *транс*-зеатину представлені на схемі (рис. 4).

Найменш вивченим є транспорт цитокінінів як на клітинному рівні, так і у рослині загалом. Дослідження культури клітин *Chenopodium rubrum* (Fußeder et al., 1989) та *Arabidopsis* (Cedzich et al., 2008) показало, що хоча дифузія відіграє важливу роль, відбувається також й активне поглинання цитокінінів клітиною. Компонент, який може виконувати функцію активного транспортера, – пуринова пермеаза (PUP) – було виділено з мутантних клітин дріжджів (Gillissen et al., 2000) і встановлено здатність цього білка розрізняти окрім пуринів також і цитокініни. Згодом в арабідопсису показано прямий активний транспорт аденіну й різних цитокінінів за допомогою AtPUP1 і AtPUP2 (Bürkle et al., 2003), причому спосіб експресії відповідних генів *PUP1* і *PUP2* свідчить про можливу участь цих переносників у довгодистанційному транспорті цитокінінів. Ще один потенційний транспортер, задіяний у переміщенні цитокінінів, – урівноважуючий нуклеозидний транспортер (equilibrative nucleoside transporter, ENT). В арабідопсису ENT6 бере участь у транспорті нуклеозидів, в тому числі рибозидів ізопентеніладеніну й зеатину, у рису переважна експресія OsENT2 у тканинах флоєми вказує на участь ENT у базипетальному транспорті цих цитокінінів (Hirose et al., 2008). Проте, хоча можливі білки-переносники для транспорту цитокінінів і встановлені, їхня спорідненість до широкого кола речовин, а також відсутність фенотипічних змін у мутантів з модифікованими відповідними генами (Werner, Schmölling, 2009) свідчать про те, що вони не відіграють суттєвої ролі в регуляції розвитку рослин. Вірогідно, основні компоненти, що здійснюють транспорт цитокінінів, ще не встановлені.

Цитокініни в рослині можуть діяти як паракринні сигнали. Наприклад, локальна індукція експресії *ipt* у латеральних бруньках тютюну спричиняла ріст лише однієї бруньки в місці індукції, але не впливала на ріст інших сусідніх бруньок, які не піддавали ніяким впливам (Faiss et al., 1997). Локальну дію цитокінінів було продемонстровано і в інших експериментах (Hwang, Sakakibara, 2006). Проте наявність довгодистанційного транспорту цитокінінів і відповідна їхня функція як дистальних сигналів не викликає сумніву. Цитокініни було знайдено у ксилемному соці багатьох видів рослин, де їхньою домінуючою формою був зеатинрибозид (Kudo et al., 2010). Мічені цитокініни, нанесені на корені, переміщуються по ксилемі, причому більша частина радіоактивності включається до зеатинрибозиду (Sakakibara, 2006). Експресія гену *CYP735A2* відбувається головним чином у коренях, але не в надземній частині рослин (Takei et al., 2004b), що свідчить про провідну роль цього органу в продукуванні цитокінінів. Отже, ймовірніше за все, зеатинрибозид, синтезований в коренях, переміщується по ксилемі, виконуючи роль акропетального сигналу. Ксилемний транспорт цитокінінів регулюється зовнішніми сигналами, зокрема наявністю поживних речовин в оточенні коренів. Додавання нітратів у середовище при вирощуванні кукурудзи у гідропонній системі призводило до зростання рівню цитокінінів спершу в коренях, потім у ксилемному соці і, нарешті, в листках, при цьому в останніх підвищувалася експресія генів первинної відповіді на цитокінін (Takei et al., 2004b). У рослин томату у відповідь на припинення постачання азоту швидке зниження росту листків корелювало зі зменшенням рівнів зеатину та зеатинрибозиду в ксилемних ексудатах (Rahayu et al., 2005). В арабідопсису у відповідь на додавання нітратів до коренів накопичувалися транскрипти *IPT3* з подальшою акумуляцією *транс*-зеатинрибозиду і *транс*-зеатинриботиду (Miyawaki et al., 2004; Takei et al., 2004b). У

свою чергу, поглинання й асиміляцію азоту контролюють цитокиніни (Ruffel et al., 2001; Krouk et al., 2011). Таким чином, зміни рівнів нітратів у коренях призводять до модифікації генної експресії у листках, спричиненої транспортом цитокинінів, що підтверджує роль цих гормонів як довгодистанційних сигналів між коренями і пагоном.

Цитокиніни присутні також у флоемі рослин (Dodd, Beveridge, 2006). Отримано прямі докази флоемного транспорту: радіоактивні цитокиніни, нанесені на сім'ядолі арабідопсису, рухалися до кореневих кінчиків (Bishopp et al., 2011). Досліди з *ipt*-мутантними рослинами арабідопсису зі зниженим рівнем цитокинінів показали диференційований транспорт різних форм цих гормонів. Прищеплення пагону від дикої рослини на корені мутантної призводило до відновлення нормального рівня ізопентеніладеніну, але не *транс*-зеатину у коренях, прищеплення коренів від диких рослин на мутантні пагони призводило до відновлення рівня *транс*-зеатину, але не ізопентеніладеніну в пагоні. Це свідчить про наявність довгодистанційного транспорту цитокинінів, а саме, *транс*-зеатин рухається від коренів до пагонів, а ізопентеніладенін, навпаки, від пагонів до коренів (Matsumoto-Kitano et al., 2008).

Таким чином, цитокиніни у рослинному організмі, очевидно, відіграють роль як паракринних локальних сигналів у меристематичних тканинах, так й ендокринних дистальних сигналів, що сповіщають, наприклад, про наявність поживних речовин. Нерівномірний розподіл цитокинінів зеатинового й ізопентеніладенінового типу в елементах судинної системи передбачає участь селективних транспортних систем, які поки що залишаються не дослідженими.

## ГЛАВА 2

### РЕЦЕПЦІЯ ТА ТРАНСДУКЦІЯ ЦИТОКІНІНОВИХ СИГНАЛІВ

Цитокініни у рослинному організмі діють як сигнальні молекули, що передають інформацію стосовно різноманітних чинників оточуючого середовища на геном клітини, запускаючи відповідну реакцію у вигляді білкового синтезу. Ключовим моментом в цьому процесі є взаємодія гормону зі специфічними рецепторами, яка призводить до перетворення сигналу у відповідь. Те, що функцію рецепторів виконують цитокінін-зв'язуючі білки, не викликало сумніву. Вони були виділені з клітин великої кількості рослин, описані їхні властивості й характеристики (Brinegar, 1994; Brault et al., 1999; Kamínek et al., 2003), проте найбільшу складність становила демонстрація функцій комплексу цитокінін-рецептор, що підтвердило б рецепторну дію цих білків. Крім того, значення константи дисоціації цитокінін-зв'язуючих білків були занадто низькими для того, щоб можна було визначити їх як рецептори. Починаючи з 2001 р. після секвенування геному *Arabidopsis thaliana* було доведено, що рецептором цитокінінів є білок сенсорна гістидинкіназа (АНК), яка відноситься до білків двокомпонентної системи передачі сигналів, детально вивчених у бактерій. Майже одночасно в роботах кількох лабораторій було встановлено гени, що кодують білки-рецептори цитокінінів: *CRE1* (*CK response 1*) (Inoue et al., 2001), *АНК2*, *3*, *4* (*Arabidopsis histidine kinase 2, 3, 4*) (Suzuki et al., 2001) та *Wooden Leg* (*WOL*) (Mähönen et al., 2000). Ці гени ідентичні, а відповідні білки є трансмембранними, інтегральними, низькомолекулярними (~100 кДа). Подібні за структурою рецептори цитокінінів були виявлені також у кукурудзи (Yonekura-Sakakibara et al., 2004) і рису (Du et al., 2007). Рослини арабідопсису, в яких було виключено один з

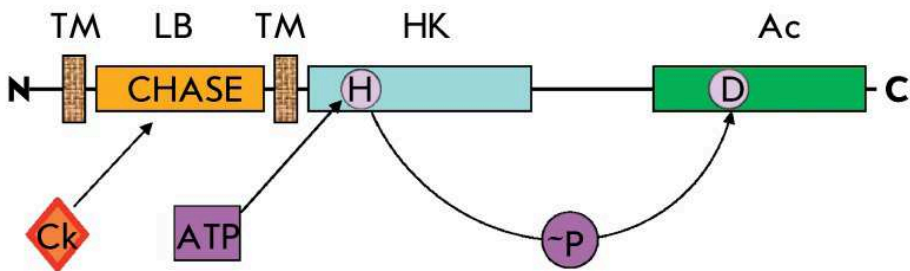


Рис. 5. Доменна структура рецептора цитокінінів (на прикладі CRE1/АНК4 арабідопсиса). Домени білку: ТМ – трансмембранний; LB – лігандзв’язуючий (CHASE); НК – гістидінкіназний; Ас – акцепторний; Сk – цитокініни; Н – консервативний залишок гістидіну; D – консервативний аспарат, N, С – N- та С-кінці білку. Стрілками показано сайти фосфорилування та переносу високоенергетичного фосфату ( $\sim\text{P}$ ) (Романов, 2009; Lomin et al., 2012).

рецепторів, майже не змінювали фенотип, тоді як виключення двох і особливо трьох рецепторів призводило до утворення карликової стерильної слабожиттєздатної рослини, нечутливої до цитокінінів (Riefler et al., 2006).

Спочатку вважалося, що рецептори цитокінінів розташовані на плазмалемі, де відбувається розпізнавання й зв’язування гормону. Проте дослідження останніх років показали, що 90% рецепторів асоційовані з мембранами ендоплазматичного ретикулу (Caesar et al., 2011; Lomin et al., 2011; Wulfetange et al., 2011). Це не виключає наявності рецепторів на поверхні клітини, проте рецепція цитокінінового сигналу, очевидно, відбувається головним чином усередині клітини.

Білки-рецептори цитокінінів мають складну доменну будову (рис. 5) (Романов, 2009; Lomin et al., 2012).

На N-кінці молекули розташований CHASE-домен (cyclases/histidine kinases associated sensor extracellular), оточений з обох боків двома або більше трансмембранними гідрофобними

доменами. Саме CHASE-домен, відповідальний за зв'язування гормону, розташований зовні мембрани (Heyl et al., 2012). За останнім трансмембранним доменом, усередині клітини, міститься центральна частина білку, або каталітичний домен, який володіє гістидинкіназною активністю. З краю цього домена розташований залишок консервативного гістидину, здатний акцептувати фосфат від АТФ. На С-кінцевій частині білку знаходиться сприймаючий домен із залишком консервативного аспартату, здатний акцептувати фосфат від фосфогістидину (Романов, 2009; Lomin et al., 2012; Schaller et al., 2011).

Як згадувалося вище, у арабідопсису відомо 3 білки-рецептори цитокінінів. Вони частково дублюють та доповнюють один одного, проте їхні функції, очевидно, відрізняються. Так, рецептор АНК4 експресується переважно у коренях і бере участь у регуляції росту первинного кореня, контролюючи проліферацію й елонгацію клітин (Ueguchi et al., 2001). Рецептор АНК3 експресується головним чином у пагоні і є основним регулятором цитокінін-індукованого фотоморфогенезу та затримання хлорофілу при старінні, викликаному затемненням (Higuchi et al., 2004). Рецептор АНК2 частково доповнює функції АНК3, але меншою мірою (Hwang, Sakakibara, 2006). Відрізняються ізоформи рецепторів і за лігандзв'язуючими властивостями: АНК3 виявляє більш високий ступінь спорідненості до *транс*-зеатину і відносно низький – до ізопентеніладеніну, тоді як АНК2 і АНК4 значно активніше зв'язують ізопентеніладенін (Spíchal et al., 2004; Romanov et al., 2006). Ці дані доповнюють вищенаведені відомості про розподіл ендогенних цитокінінів у рослині (переважний рух зеатинових форм по ксилемі й ізопентенільних – по флоемі) і підтверджують можливість здійснення інформаційного обміну між різними частинами рослини за рахунок сигналів цитокінінів різної будови.

Слід відзначити, що хоча кожен з рецепторів може превалювати в здійсненні певних фізіологічних подій, жоден з цитокінін-регульованих процесів не контролюється одним окремим рецептором (Heul et al., 2012). Функціональне доповнення компонентів рецепції, очевидно, сприяє підвищенню надійності роботи сигнальних шляхів.

Рецепція цитокініну відбувається від N-кінця білку у напрямку до С-кінця. Після утворення комплексу цитокініну із сайтом зв'язування в CHASE-домени відбувається димеризація гормон-рецепторних комплексів (Hothorn et al., 2011). При цьому звільняється надлишок енергії, відбувається автофосфорилування консервативного залишку гістидину в димері гістидинкінази. Високоенергетичний фосфат внутрішньомолекулярно переноситься на залишок консервативного аспартату ресиверного домена гістидинкінази, а звідти – на консервативний залишок гістидина низькомолекулярного білка-фосфотрансміттера, який постійно рухається між цитоплазмою і ядром клітини (Punwani et al., 2010). В арабідопсису ідентифіковано родину з 5 таких білків (АНР1 – АНР5), які доповнюють один одного у трансдукції цитокінінового сигналу. Це невеликі білки, в структурі яких міститься залишок консервативного гістидину, здатний акцептувати активований фосфат від залишку аспартата рецептора. Білки-фосфотрансмітери переміщуються в ядро, де віддають цей фосфат регуляторам відповіді (Suzuki et al., 2001; Tanaka et al., 2004a; Dortay et al., 2006). Аналіз мутацій генів, які кодують ці білки, показав, що всі вони є позитивними регуляторами сигналіngu цитокінінів і впливають на розвиток рослин у багатьох аспектах, мутант за генами всіх 5 білків нагадував потрійний мутант за генами рецепторів (Hutchison et al., 2006; Deng et al., 2010). Слід відмітити існування в арабідопсису ще одного білка з групи фосфотрансмітерів – АНР6, у якого відсутній залишок консервативного гістидину,

необхідного для переносу активного фосфату. Він може зв'язуватися як з рецептором, так і з регулятором відповіді, інгібуючи їхню взаємодію зі справжніми переносниками фосфату та виконуючи функції негативного регулятора в трансдукції цитокінінових сигналів (Mähönen et al., 2006).

Білки – регулятори відповіді (ARR), які акцептують активований фосфат від білків трансмітерів у ядрі, підрозділяються на групи А, В, С і превдорегулятори (Gupta, Rashotte, 2012). Всі вони мають у своєму складі N-кінцевий ресиверний домен, здатний фосфорилюватися, проте тільки одна підгрупа ARR-В має у своєму складі домен, здатний до сайт-специфічного зв'язування ДНК. Процес взаємодії білків ARR-В з ДНК має складний характер, він відбувається між строго визначеними доменами і потребує димерізації білка та його внутрішньомолекулярної перебудови (Ramireddy et al., 2013; Zürcher et al., 2013). Численними дослідженнями доведено, що саме регулятори відповіді В-типу виконують функції транскрипційного фактора (Lohrmann, 2001; Sakai et al., 2001; Mason et al., 2005). В арабідопсису група ARR-В налічує 11 білків, 3 з яких відіграють вирішальну роль у регуляції більшості типових відповідей на цитокініни (Mason et al., 2005; Argyros et al., 2008; Ishida et al., 2008), проте суттєві зміни фенотипу спостерігалися у комбінованих мутантів за декількома генами, що свідчить про взаємне перекриття функцій цих білків.

Обробка рослин екзогенними цитокінінами призводить до суттєвих змін генної експресії. Нещодавно було складено список генів, експресія яких значно змінюється при короткотривалій обробці цитокінінами. Такі цитокінін-регульовані гени задіяні не тільки в біосинтезі та метаболізмі цитокінінів, але й у функціонуванні ауксинів, формуванні стійкості до хвороб, відповідях на абіотичні стреси, транспорт



азоту, синтез антоціанів, регуляцію редокс-потенціалу (Brenner et al., 2012; Bhargava et al., 2013).

Білки – регулятори відповіді типу А (ARR-A) на відміну від ARR-B, хоча і здатні приймати фосфат від білків-трансмiттерів, проте С-кінець їхньої молекули на 100 амінокислотних залишків коротше, вони не містять домен, відповідальний за транскрипційну регуляцію (Brandstatter, Kieber, 1998; D’Agostino et al., 2000). Гени, що кодують ці білки, відносяться до так званих генів первинної відповіді. Вони дуже швидко індуються в присутності цитокінінів (10–15 хв), повертаючись у стабільний стан упродовж наступної години. Активація цих генів не пов’язана із синтезом білка *de novo* (Ramireddy et al., 2013). Мутанти, дефіцитні за 2 і більше генами з цієї родини (*ARR 3-9, 15*), володіють підвищеною чутливістю до цитокінінів, що вказує на роль білків ARR-A як негативних факторів у сигналінгу цитокінінів. Такі мутанти демонструють такі самі зміни у відповідях на цитокініни, як і *ARR-B*, тільки у протилежному напрямку (Lee et al., 2007; To et al., 2007). Здатність білків ARR-A негативно впливати на трансдукцію цитокінінового сигналу пояснюється їхньою конкуренцією з білками ARR-B за активований фосфат білків-трансмiттерів (Dortay et al., 2006). Лаконічна схема трансдукції цитокінінових сигналів представлена на рис. 6.

Таким чином, двокомпонентна система передачі цитокінінових сигналів у рослин, яка складається із сенсорної гістидинкінази (рецептор) і регулятора відповіді (транскрипційний фактор), функціонує за тими ж принципами, що й в інших організмів (бактерій, тварин): гормон зв’язується з рецептором, розташованим на мембранах, внаслідок чого утворюється сигнал у вигляді активованого фосфата, який за допомогою транспортних білків переноситься на первинну клітинну мішень (гени відповіді). Слід відзначити високу стабільність і надійність системи трансдукції цитокінінових

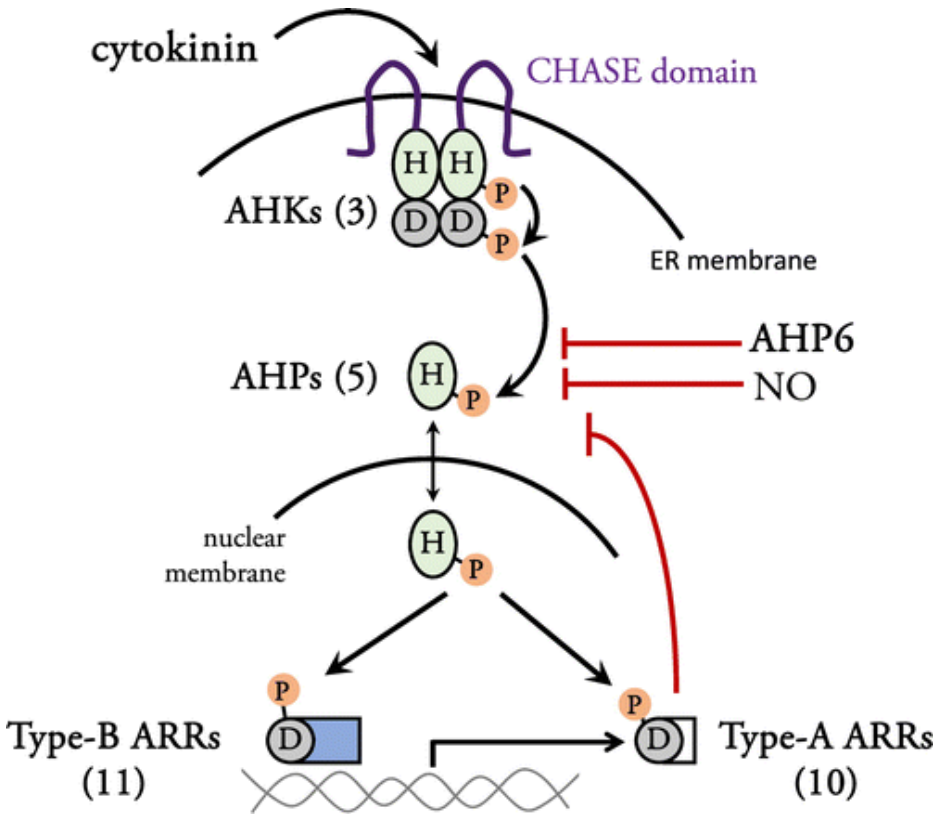


Рис. 6. Модель трансдукції цитокінінових сигналів у рослин. Цитокінін з'ясується з CHASE-доменом рецепторів (3 білки АНК) усередині порожнин ендоплазматичного ретикулуму (ER). У результаті активується каталітичний домен і відбувається автофосфорильовання гістидинкінази (H). Далі активований фосфат передається на аспарагіновий залишок (D) ресиверного домену, а звідти – на трансмітерні білки (5 білків АНР), які курсують між цитоплазмою і ядром. В ядрі АНР-білки передають фосфат на білки-регулятори відповіді типу В (11 білків type-B ARR), які регулюють експресію багатьох генів-мішеней. Білки-регулятори відповіді типу А (10 білків type-A ARR), які також фосфорильовуються АНР-білками за принципом зворотного зв'язку та інгібують цитокініновий сигналінг. Псевдофосфотрансмітерний білок АНР6 і оксид азоту NO також негативно регулюють передачу сигналу (Kieber, Schaller, 2014).

сигналів, у функціонуванні якої задіяно більше 100 генів (Романов, 2009). Існування її не залежить від наявності цитокінінів і не регулюється ними, тобто присутність цієї системи у клітині контролюється інакше (Brenner et al., 2012).

Наявність факторів негативної регуляції стабілізує роботу системи та запобігає її перевантаженню.

Незважаючи на величезний обсяг інформації та отримані значні успіхи в розумінні механізмів дії цитокінінів, залишається чимало питань, на які поки немає відповіді. Зокрема, яким чином відбувається розпізнавання великої кількості сигналів різної інтенсивності, в який спосіб одні й ті самі форми цитокінінів спричиняють велику кількість різноманітних відповідей, як відбувається сполучення довгодистанційних і локальних сигналів й багато інших.

## ГЛАВА 3

### РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ТА ЕВОЛЮЦІЯ ЦИТОКІНІНІВ

Молекули цитокінінів у еволюційному відношенні є дуже консервативними, вони присутні як у вільній формі, так і у складі тРНК у найрізноманітніших груп організмів: бактерій, нижчих і вищих рослин, грибах, нематодах, комах, людини. Припускається, що первинні функції цих молекул, зафіксовані еволюційно, полягали у покращенні трансляції білка в рибосомах, оскільки модифікували 3'-кінець антикодона специфічних тРНК (Persson et al., 1994). Мутанти *Escherichia coli*, які втрачають таку модифікацію, характеризуються дестабілізацією взаємодії кодон-антикодон, у ссавців таке порушення викликає рак, а ген, що відповідає за цю модифікацію у людини, розглядається як негативний регулятор канцерогенезу (Spinola et al., 2005). Хоча при розкладанні тРНК може утворюватися лише незначна кількість вільних цитокінінів (головним чином *цис*-зеатин), вважають, що на початку еволюції саме тРНК була джерелом цих молекул, а першим кроком на шляху до використання їх як сигнальних молекул були мутації, що призвели до збільшення числа генів, які кодують тРНК-ізопентенілтрансферазу (Frébert et al., 2011). У багатьох видів бактерій (Maruyama et al., 1986), мікро- і макроводоростей (Chlorophyta, Phaeophyta, Rhodophyta та ін.) (Ördög et al., 2004; Stirk, Van Staden, 2010), папоротей (Arthur et al., 2007), грибів (Dekhuijzen, 1980; Van Staden, Nicholson, 1989), мохів (von Schwartzenberg et al., 2007), комах (Dorchin et al., 2009) домінують цитокініни *цис*-зеатинового типу, що свідчить про можливість суттєвого вкладу деградації тРНК у пул цитокінінів цих організмів. У моха *Physcomitrella patens* це підтверджується результатами генетичного аналізу (Yevdakova et al., 2008). У раннього еукаріота слизовика *Dictyostelium*

*discoideum*, який має ознаки як рослин, так і тварин, виявлено два гени, що відповідають за утворення цитокінінів через розпад тРНК, і один, що контролює їхній синтез *de novo* (Anjard, Loomis, 2008). Слід зазначити, що у більш стародавніх в еволюційному відношенні організмів (водорості, мохи, гриби) у метаболізмі цитокінінів відсутнє або дуже рідкісне утворення N-глюкозидів, і високі концентрації *цис*-форм можуть використовуватися для підтримання гомеостазу цитокінінів, зокрема для їхньої деактивації (Záveská Drábková et al., 2015).

Шляхи біосинтезу та метаболізму цитокінінів у нижчих організмів і в покритонасінних суттєво різняться, що дає змогу прослідкувати їхню еволюцію. Специфіка бактеріального біосинтезу цитокінінів полягає в тому, що вони можуть використовувати ГМБДФ і ДМАФФ як субстрат, а АМФ – лише як акцептор (на відміну від рослин, які використовують ще АДФ і АТФ) (Kamada-Nobusada, Sakakibara, 2009). Порівняння геномів різних рослин показало, що в механізмах передачі цитокінінових сигналів задіяні гени, ідентичні генам бактерій. Гени *IPT* були ідентифіковані у *Pseudomonas savastanoi*, *Rhodococcus fascians*, *Erwinia harbicola* (Taylor et al., 2003). Це спостереження дозволило припустити, що окремі складові системи біосинтезу і метаболізму цитокінінів набуті, очевидно, ранніми еукаріотами через горизонтальний перенос генів від стародавніх ціанобактерій в ході ендосимбіозу, який призвів до утворення хлоропластів і виникнення Рубиско (Schmülling et al., 2003; Anantharaman et al., 2007). Цитокініни визначені у багатьох ціанобактерій, таких як *Synechocystis*, *Chroococcidiopsis*, *Anabaena*, *Phormidium*, *Oscillatoria* (Hussain et al., 2010), а родини гомологічних *IPT*-генів присутні в еукаріотів (Maruyama et al., 2009). Нещодавно в ціанобактерії *Synechocystis* було виділено цитокінін-зв'язуючий білок з високою спорідненістю до *транс*-зеатину, здатний активувати

транскрипцію білка в хлоропластах ячменю (Куприянова и др., 2014). Таким чином, ймовірність вищезгаданого переносу генів з подальшим утриманням їх в ядерному геномі досить велика. Слід відзначити, що двокомпонентна система передачі сигналів, присутня у бактерій, ранніх еукаріотів і рослин, відсутня у тварин, у останніх вона вважається такою, що була втрачена в ході еволюції (Pils, Heyl, 2009).

Існує припущення, що сигнальну роль фітогормони почали виконувати лише у водоростей, тоді як у менш еволюційно розвинутих організмів вони є тільки продуктами метаболізму (Kenrick, Crane, 1997). Експериментальних даних для підтвердження такої можливості поки що недостатньо. Хоча цитокініни й присутні у різних видів водоростей, повний набір генів, відповідальних за їхній метаболізм і рецепцію, не вдалося ідентифікувати (Pils, Heyl, 2009; Gu et al., 2010). Так чи інакше, проте саме перехід від водного існування до наземного був ключовим в еволюції рослин. Розмежування між зеленими водоростями й наземними рослинами, яке відбулося 750 мільйонів років тому (Zimmer et al., 2007), спричинило необхідність пристосування до нових умов життя, появу морфологічних змін і нових програм розвитку, виконання яких потребувало наявності сигнальних систем, що знайшло відображення на фізіологічному й молекулярному рівнях. Існує думка, що саме потреба цитокінінів у більших кількостях, ніж звільнювалося при розкладанні тРНК, призвела до дивергенції шляхів біосинтезу цитокінінів у ході еволюційного розвитку і закріплення синтезу *de novo* у квіткових рослин на генетичному рівні. Саме ця подія стала найважливішим кроком у формуванні системи гормональної регуляції в сучасному вигляді (Frébert et al., 2011).

Після секвенування геномів багатьох рослин різної систематичної належності від одноклітинних водоростей, мохів, плаунів до вищих квіткових було здійснено філогенетичний

аналіз, який дав змогу прослідкувати походження й еволюцію сигнальної системи цитокінінів (Pils, Heyl, 2009; Frébort et al., 2011; Spíchal, 2012). Очевидно, що її окремі компоненти були набуті рослинами поступово. Так, білки-фосфотрансміттери присутні у бактерій і ранніх еукаріотів, регулятори відповіді типу В з'явилися у зелених водоростей, тоді як гістидинкінази з CHASE-доменом (рецептори) і регулятори відповіді типу А виникли пізніше у наземних рослин у відповідь на нові умови існування. Це показано у первинних наземних організмів – мохів *Physcomitrella patens* і *Selaginella moellendorffii* (Pils, Heyl, 2009; Gu et al., 2010). Кількість рецепторів залишалася однаковою, починаючи від мохів до квіткових рослин, тоді як кількість білків інших родин, задіяних у передачі сигналів, поступово збільшувалася (Heyl et al., 2012; Spíchal, 2012). Це продемонстровано на прикладі генів цитокініноксидази (*CKX*), число яких у процесі еволюції збільшувалося з відповідним зростанням функцій, характеру експресії та субклітинної локалізації, типових для вищих рослин (Gu et al., 2010). Кількість генів, що кодують тРНК-*IPT*, навпаки, зменшилася від 6 у мохів до 2 у вищих рослин, а гени *IPT* з'явилися лише у насінневих рослин (Frébort et al., 2011). Всі вище наведені дані філогенетичного аналізу геномів різних рослин є лише початком дослідження шляхів еволюційного розвитку сигнальної системи цитокінінів. Ураховуючи, що лише в арабідопсису компоненти цієї системи вивчено відносно детально, а в інших рослин – тільки фрагментарно, порівняльний аналіз експресії окремих генів і функцій відповідних білків неможливо здійснити у повному обсязі. Крім того, вочевидь бракує даних стосовно еволюційно нижчих і стародавніх організмів, наприклад печіночників й хвощів.

Цікавим з точки зору еволюційних досліджень є з'ясування механізмів використання цитокінінів організмами-паразитами та симбіонтами. Здатність продукувати цитокініни виявлена у

фітопатогенних галоформуєчих бактерій *Rhodococcus fascians* і *Agrobacterium tumefaciens*, *Rhodococcus fascians*, *Erwinia herbicola* pv. *gypsophilae*, *Pseudomonas syringae* pv. *Savastanoi*, *Streptomyces turgidiscabies*, у корисних симбіотичних бактерій родів *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, у паразитарних грибів *Puccinia thlaspeos*, *Fusarium moniliforme*, *Ustilago maydis*, *Verticillium longisporum*, у нематод *Meloidogyne* spp. і *Heterodera* spp., у мух *Pontania proxima*, *Procecidochares utilis*, *Eurosta solidaginis* та інших паразитів, ушкодження якими призводить до формування пухлин та інших деформацій (Stirk, Van Staden, 2010). Загальна стратегія цих організмів – застосування цитокінінів для маніпулювання розвитком рослини-хазяїна, причому вони можуть не тільки використовувати синтезовані собою гормони, але й змінювати експресію генів синтезу цитокінінів в окупованій рослині (Spíchal, 2012). Механізми такої взаємодії філогенетично далеких організмів поки що мало досліджені. Слід відзначити захисну функцію ендогенних цитокінінів у рослин проти мікробних та інших інвазій (Giron et al., 2013).



## ГЛАВА 4

### ЦИТОКІНІНИ ГРИБІВ

Гриби утворюють окреме царство живих істот – Fungi. За клітинною будовою і характером метаболічних перетворень вони мають ознаки як рослин, так і тварин. Наявність гормональної системи, яка запускає всі без виключення життєві програми й управляє ними впродовж онтогенезу, аналогічної рослинній, у грибів поки що залишається невизначеною. Здатність до синтезу фітогормонів виявлена у багатьох видів сапротрофних, паразитних, симбіотичних грибів різних таксономічних груп, проте функціональне значення знайдених сполук поки що не встановлено (Chanclud, Morel, 2016). Вивчалися, головним чином, мікроскопічні фітопатогенні гриби, які спричиняють аномальний ріст тканин рослини-хазяїна й утворення пухлин. Установлено, що одним з характерних симптомів грибного ураження є підвищення в декілька разів рівня цитокінінів у цих тканинах, ймовірноше за все, за рахунок синтезу грибом, оскільки здатність продукувати цитокініни у високих кількостях показана при вирощуванні грибів у культурі (Jiang et al., 2013; Castillo et al., 2014). У гриба *Fusarium moniliforme* виявлено включення міченого аденіну в цитокініни, що свідчить про синтез гормону *de novo* (Van Staden, Nicholson, 1989). Гени, які кодуєть ключові ферменти біосинтезу цитокінінів, ідентифковані у біотрофних грибів *Claviceps purpurea* (Jiang et al., 2013; Hinsch et al., 2015) і *Magnaporthe oryzae* (Chanclud et al., 2016). Вважається, що паразитарні гриби застосовують цитокініни для притоку асимілятів рослини-хазяїна і використання їх для свого розвитку, при цьому вони можуть не тільки використовувати власні синтезовані гормони, але й змінювати експресію генів синтезу цитокінінів в окупованій рослини (Choi et al., 2011; Spíchal, 2012).

Що стосується вищих базидієвих грибів, відомості про наявність у них цитокінінів дуже обмежені. Перші повідомлення про детектування цитокінінової активності у плодових тілах базидієвих грибів біотестовими методами з'явилися у 70–80-і роки ХХ століття. Цитокінінову активність було визначено у плодових тілах білих грибів, маслюків і трюфелів (Ng et al., 1982). Активність, що відповідала зеатину і зеатинрибозиду, була виявлена в *Agaricus bisporus* (J.E. Lange) Imbach та *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer (Dua, Jandaik, 1979), у 6 видів роду *Rhizopogon* та 22 видів роду *Hebeloma* (Crafts, Miller, 1974). Пізніше цитокініни було визначено прецизійними методами: зеатин – у *Lentinus tigrinus* і *Laetiporus sulphurous* (Özcan, 2001), *транс*-зеатин – у 18 видів макроміцетів, зокрема у *L. tigrinus*, *Boletus impolitus*, *Ptychoverpa bohemica*, *Volvarellia speciosa*, *Amanita gemmata* та ін. (Türker et al., 2005), сім цитокінінів зеатинового й ізопентенільного типу – у *Amanita muscaria* (Kovač, Žel, 1995). Нещодавно за допомогою мас-спектрометрії вдалося виявити 7 форм цитокінінів у 20 видів лісових грибів (Morrison et al., 2015). Існує декілька повідомлень про взаємозв'язки між ростом базидіоміцетів і вмістом цитокінінів. Наприклад, кінетин при додаванні у культуральне середовище сприяв підвищенню біомаси і вмісту білка у *P. sajor-caju* (Mukhopadhyay et al., 2005) і *A. bisporus* (Guha, Banerjee, 1974). Зменшення росту міцелію *A. muscaria* після обробки алюмінієм корелювало зі зниженням загальної кількості цитокінінів (Kovač, Žel, 1995).

Такий обмежений інтерес до ріст-регулюючих речовин у базидіоміцетів є невиправданим, оскільки ці організми продукують не тільки високоякісний білковий продукт, але й біологічно активні речовини, завдяки яким вони володіють цінними медичними властивостями. Медичним грибам притиманні близько 130 терапевтичних функцій, в тому числі протипухлинні, імуномодулюючі, антиоксидантні,

протівірусні та ін., хоча механізм такої їхньої дії вивчений фрагментарно (Wasser, 2014). Водночас доведено аналогічні терапевтичні властивості цитокінінів (Casati et al., 2011; Kolyachkina et al., 2011; Molinsky et al., 2013). На відміну від рослин, в яких цитокініни є стимуляторами поділу клітин, у тварин та людини ці речовини викликають апоптоз і блокують клітинний цикл широкого спектру ракових клітин (Voller et al., 2010). Вони змінюють морфологію та дезорганізують актиновий цитоскелет клітин карциноми січового міхура (Castiglioni et al., 2013), блокують синтез ДНК і підвищують рівень інгібітора циклін-залежної кінази (Spinola et al., 2007) та індукують гени, задіяні в негативній регуляції протікання клітинного циклу (Colombo et al., 2009) ракових клітин епітелію. Цитокініни також інгібують реплікацію ентеровірусу людини (Tagarov et al., 2015), проявляють цитотоксичну та імуномодулюючу дію, сприяють проліферації природних клітин-кілерів (Ciaglia et al., 2013).

Медичні властивості лікарських грибів пов'язують із наявністю полісахаридів і специфічних тритерпенів, причому протипухлинна активність цих речовин залежить від кон'югації з поліпептидами та білками. Не виключено, що до складу фармакологічно активних компонентів грибів входять і цитокініни. Це питання активно досліджується в Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (Веденичова та ін., 2016; Vedenicheva et al., 2016). Показано, що міцеліальна біомаса 13 видів базидіоміцетів у культурі продукує широкий спектр і високі кількості цитокінінів, які значно перевищують такі у рослин при перерахунку на масу сухої речовини (табл. 1). Найбільш перспективними видами визначено *Fomitopsis officinalis*, штам 5004 та *Morchella esculenta*, штам 1755, в яких високий сумарний рівень цитокінінів поєднується зі значними кількостями зеатинрибозиду, оскільки відомо, що найбільшу антипроліферативну й цитотоксичну дію на ракові клітини

Таблиця 1. Вміст цитокінінів у міцеліальній біомасі базидіоміцетів, мкг/г маси сухої речовини

Вид грибів	Цитокінін									
	<i>t-Z</i> *	<i>c-Z</i> *	ZR*	iPa*	iP*	ZOG*	$\Sigma$			
<i>Flammulina velutipes</i> , штам 1878	1,01±0,49	0,57±0,02	1,33±0,61	0	0,28±0,01	0	3,19			
<i>Ganoderma lucidum</i> , штам 1900	0,83±0,03	1,99±0,09	1,02±0,04	0,32±0,01	0,14±0,006	0,71±0,03	5,02			
<i>Cyclocybe aegerita</i> , штам 960	1,95±0,097	1,24±0,05	1,77±0,07	0	0,25±0,012	0	5,21			
<i>Grifola frondosa</i> , штам 976	2,03±0,09	2,36±0,11	0	0	0	1,10±0,05	5,49			
<i>Lentinula edodes</i> , штам 712	2,65±0,12	1,07±0,04	1,32±0,06	0,23±0,01	0,43±0,02	0	5,70			
<i>Sparassis crispa</i> , штам 314	2,26±0,11	1,02±0,04	2,26±0,11	0	0,22±0,01	0	5,76			
<i>Trametes versicolor</i> , штам 353	2,20±0,10	4,87±0,23	1,51±0,07	0	0	0,06±0,003	8,64			
<i>Pleurotus nebrodensis</i> , штам 2035	1,85±0,09	1,49±0,07	0,88±0,03	0	0	4,44±0,21	8,66			
<i>Fomitopsis officinalis</i> , штам 5004	1,89±0,08	3,03±0,14	3,40±0,16	0	0	3,89±0,18	12,21			
<i>Hericium erinaceus</i> , штам 991	4,02±0,19	2,44±0,12	0	0	0	5,98±0,29	12,44			
<i>Pleurotus ostreatus</i> , штам 551	0	4,32±0,21	0	0	0	9,95±0,45	14,27			
<i>Hericium coralloides</i> , штам 2332	7,19±0,34	1,70±0,08	4,06±0,20	0	2,66±0,13	0	15,61			
<i>Morchella esculenta</i> , штам 1755	9,95±0,43	9,24±0,41	0	0	1,46±0,06	6,33±0,26	26,98			

\* *t-Z* — транс-зеатин, *c-Z* — цис-зеатин, ZR — зеатинрибозид, iPa — ізопентеніладенозин, iP — ізопентеніладенін, ZOG — зеатин-О-глюкозид.

проявляють саме нуклеозидні форми цитокінінів (Ottaria et al., 2010; Drenichev et al., 2016).

Отже, здатність міцелярної біомаси базидієвих грибів до продукування високих рівнів цитокінінів дозволяє вважати досліджені види макроміцетів перспективними для подальших розробок, спрямованих на створення біотехнології отримання біологічно активних продуктів.

## ГЛАВА 5

### РОЛЬ ЦИТОКІНІНІВ В ОНТОГЕНЕЗІ РОСЛИН

#### 5.1. Цитокініни спорових рослин

Цитокініни виявлено у представників практично всіх відділів і класів рослин від прокаріотичних організмів до вищих. Проте механізми їхнього функціонування, роль у регуляції росту й розвитку вивчалися головним чином у вищих квіткових рослин. Останнім часом все більше уваги привертає еволюція цитокінінів, формування їхньої сигналігової системи в ході історичного розвитку живих організмів (Frébort et al., 2011; Spíchal, 2012). Проте суттєва нестача фактичного матеріалу не дає можливості зробити остаточні висновки стосовно становлення і вдосконалення механізмів регуляторної дії цих гормонів у процесі еволюції рослинного світу. Для більш повного розуміння ролі фітогормонів необхідним кроком є з'ясування їхньої наявності у представників рослин різної систематичної належності, дослідження їхньої динаміки впродовж життєвого циклу, локалізації у вегетативних і генеративних органах, співставлення цих даних з відомостями щодо швидкості й напрямку ростових процесів, а також порівняльний аналіз такої інформації стосовно рослин різного таксономічного положення.

#### Цитокініни макроводоростей

У 31 виду морських макроводоростей (5 видів Chlorophyta, 7 видів Phaeophyta та 19 видів Rhodophyta) було ідентифіковано 19 форм ізопреноїдних й ароматичних цитокінінів (Stirk et al., 2003). Широкий спектр цитокінінів був присутній у 11 бразильських видів червоних водоростей (Yokooya et al., 2010). Зростання цитокінінової активності спостерігалось

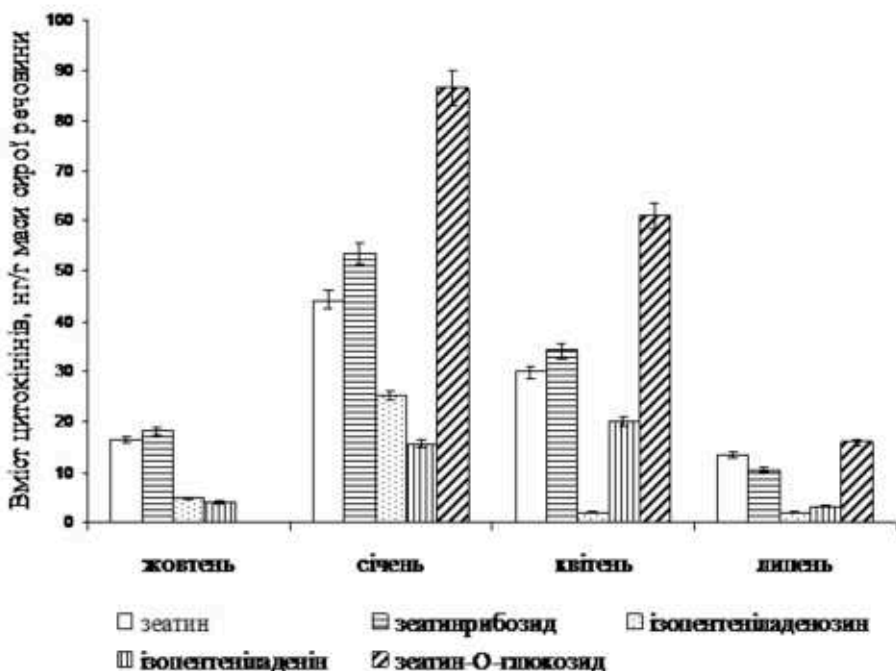


Рис. 7. Сезонна динаміка вмісту цитокінінів у таломі *Cystoseira barbata*

у бурій водорості *Sargassum heterophyllum* при утворенні репродуктивних органів і гамет (Mooney, Van Staden, 1984). В окремих роботах простежувалася сезонна динаміка цитокінінів у таломі, зокрема було показано підвищений вміст вільних форм у період активного росту й накопичення глюкозидів під час повільного росту *Ecklonia maxima* (Featonby-Smith, Van Staden, 1984), *Sargassum heterophyllum* (Mooney, Van Staden, 1984) і *Macrocystis pyrifera* (De Nys et al., 1990). Підвищення вмісту цитокінінів в океанічних водоростей *Ulva fasciata* та *Dictyota humifusa* відбувалося влітку у період активного росту (Stirk et al., 2009). Разом із цим, у таломі чорноморської бурій водорості *Cystoseira barbata* цитокініни акумулюються взимку під час утворення органів розмноження, тоді як улітку сумарний вміст цих гормонів був у 5 разів нижче (рис. 7) (Веденичова

та ін., 2015). Такі результати узгоджуються з припущенням, що функції цих гормонів у альгофітів відрізняються від таких у вищих рослин і не пов'язані з регуляцією росту, оскільки у водоростей не вдалося ідентифікувати всі гени сигнальних шляхів цитокінінів (Pils, Heyl, 2009), а метаболічні шляхи цитокінінів у водоростей і судинних рослин суттєво відрізняються (Zižkova et al., 2017).

В останні роки підвищився інтерес до вивчення морських макроводоростей у зв'язку з використанням їхніх біологічних і енергетичних ресурсів. Величезна біомаса водоростей, доступна у прибережних районах, містить значну кількість не тільки поживних елементів, але й біологічно активних речовин. Тому на основі водоростей створюються промислові екстракти та біостимулятори для використання у рослинництві, застосування яких дозволяє підвищити стійкість та врожайність сільськогосподарських культур (Craigie, 2010; Tuny et al., 2013). Так, обприскування рослин томата концентратом з бурії водорості *Ecklonia maxima* підвищувало врожайність на 30% (Crouch, Van Staden, 1992). Створений на основі цього екстракту комерційний препарат Kelpak значно підвищував стійкість рослин до зміни умов водопостачання та кислотності ґрунту (Arthur et al., 2013). Біотестування подібних препаратів показало наявність у них високої біологічної активності цитокінінів (Stirk, Van Staden, 1996; Stirk et al., 2004). Визначення високих концентрацій цитокінінів у таломі *S. barbata* у зимовий період дозволяє рекомендувати зимові штормові викиди водорості як джерело для отримання ефективних біологічних регуляторів росту (Веденичова та ін., 2015).

### **Цитокініни судинних спорових рослин**

Значний інтерес для вивчення еволюції гормональної системи становлять представники судинних спорових рослин – хвощі,



одні з найстародавніших рослин, які з'явилися у девоні палеозойської ери і досягли розквіту в кам'яновугільний період. До початку мезозойської ери майже всі вони вимерли. У наш час відділ хвощеподібних (*Equisetophyta*) представлений одним родом Хвощ (*Equisetum*), який містить 25 видів. Механізми регуляції ростових процесів цих рослин майже не досліджено, хоча вони, безперечно, заслуговують на увагу, оскільки дозволили виживати хвощам упродовж 300 млн років.

У літературі існують поодинокі повідомлення стосовно вмісту ендогенних цитокінінів у деяких видів судинних спорових, в тому числі у хвощів, та про вплив екзогенних регуляторів росту на їхній розвиток у культурі *in vitro*. Вперше хімічну ідентифікацію цитокінінів у *Equisetum arvense* L. методом газової хроматографії з селективним іон-моніторингом було здійснено в 1983 р. Було виявлено ізопентеніладенозин та ізопентеніладенін у стерильних та фертильних листках (Yamane et al., 1983). Пізніше було встановлено, що утворення спорофітних пагонів хвощів *E. arvense* індукується обробкою тканин гаметофіту БАП (Kuriyama et al., 1992). Додавання бензиладеніну було абсолютно необхідне для ініціації розвитку спорофітних пагонів *E. arvense* при культивуванні *in vitro* (Kuriyama et al., 1993). Спори *E. arvense*, які культивували на середовищі без додавання цитокінінів, проростали через 2–3 дні після замочування і формували гаметофіт з нормальними вакуольованими клітинами, тоді як внесення в культуральне середовище цитокінінів призводило до утворення глобулярної клітинної маси, яка складалася з маленьких і щільних клітин. Подальше культивування призводило до розвитку спорофіту (Kuriyama, Maeda, 1999).

Дослідження динаміки цитокінінів *E. arvense* показало, що у генеративних і вегетативних пагонах найвищий вміст зеатинових форм спостерігався на початку розвитку, в період найбільшої інтенсивності росту, з припиненням якого

рівень цитокінінів знижувався. Специфічна риса *E. arvense* – підвищений вміст зеатин-О-глюкозиду на ранніх стадіях розвитку, а також різний тип розподілу гормонів уздовж вертикальної осі у генеративних і вегетативних пагонах (у перших спостерігалася наявність концентраційних градієнтів, у других – наявність локальних зон синтезу гормонів). Отже, у хвоща польового ендокринна (далекодистанційна) дія цитокінінів поєднується з паракринною (локальною у місці їхнього біосинтезу) лише у вегетативних пагонах, тоді як у спороносних пагонах функціонує лише один, менш надійний, тип регуляції. Вірогідно, що останній поступово замінювався на більш досконалий у процесі еволюційного розвитку рослин (Веденичова, Ситник, 2013).

До судинних спорових рослин належать папоротеподібні, переважна більшість робіт з дослідження цитокінінів у яких спрямована на вивчення впливу екзогенних гормонів на ріст у культурі. Зокрема встановлено, що кінетин не впливав на ріст протонеми *Mohria caffrorum* (L.) Desv., проте значною мірою нівелював інгібіторний вплив на нього АБК (Chia, Raghavan, 1982). Цитокініни були необхідним компонентом культурального середовища при мікроклональному розмноженні декоративної папороті *Rumohra adiantiformis* (G. Forst.) Ching, де вони потрібні для розвитку кореневища (Chen, Read, 1983). Водночас, бензиладенін, котрий подовжує життя багатьох зрізаних рослин, скорочував його у папороті *Lycopodium cernuum* L. (Paull, Chantrachit, 2001). Субнаномолярні концентрації БАП, кінетину та ізопентеніладеніну змінювали швидкість росту, поділу, розтягування та диференціації клітин *Ceratopteris richardii* Brongn. (Spiro et al., 2004). Внесення цитокініну разом з іншими фітогормонами в культуральне середовище сприяло регенерації спорофіту *Asplenium nidus* L., тоді як гаметофіт розвивався без додавання регуляторів росту (Menéndez et al., 2011). При культивуванні папороті *Osmunda*

*regalis* L. морфологія і сексуальний розвиток гаметофітів залежав від концентрації кінетину (Greer et al., 2012). У *Azolla filiculoides* зеатин стимулював розвиток кореневої меристеми (De Vries et al., 2016) на відміну від покритонасінних, у яких дія цитокінінів є протилежною.

Ендогенні цитокініни, зокрема ізопентеніладенозин, було вперше виявлено у листках *Dryopteris crassirhizoma* Nakai (Yamane et al., 1983). За допомогою біотесту у водних папоротей *Azolla filiculoides* Lam. визначено активність, яка відповідала зеатину, зеатинрибозиду, дигідрозеатину, ізопентеніладеніну та ізопентеніладенозину, а у *Salvinia molesta* D.S. Mitch. – лише першим трьом цитокінінам (Stirk, Van Staden, 2003). У *Marsilea drummondii* A. Br. встановлено вміст зеатину, зеатинрибозиду й ізопентеніладеніну (Pilate et al., 1989). У період спорогенезу папороті *Psilotum nudum* (L.) Beauvois серед інших цитокінінів у кореневищах та пагонах превалювали рибозиди зеатину й дигідрозеатину (Abul et al., 2010).

Динаміку вмісту різних форм цитокінінів у вегетативних і генеративних органах папоротей вперше вивчали на прикладі різноспорової однорічної водної папороті сальвінії плаваючої (*Salvinia natans* (L.) All. Найвищий сумарний вміст активних вільних форм зафіксовано у плаваючих ваях на стадії інтенсивного вегетативного росту. Спектр і вміст цитокінінів в органах *S. natans* варіював залежно від інтенсивності росту папороті. Розподіл цитокінінів між плаваючими і зануреними ваями засвідчив функціональну нерівнозначність цих органів й першочергову роль плаваючих вай у продукуванні фітогормонів (Веденичова, Косаківська, 2016).

У вічнозеленій папороті *Polystichum aculeatum* (L.) Roth. найвищий вміст активних вільних форм цитокінінів був притаманний ваям на початку розвитку спорофіту, коли відбувався їхній інтенсивний вегетативний ріст (рис. 8). При переході до репродуктивного розвитку папороті рівень *транс-*

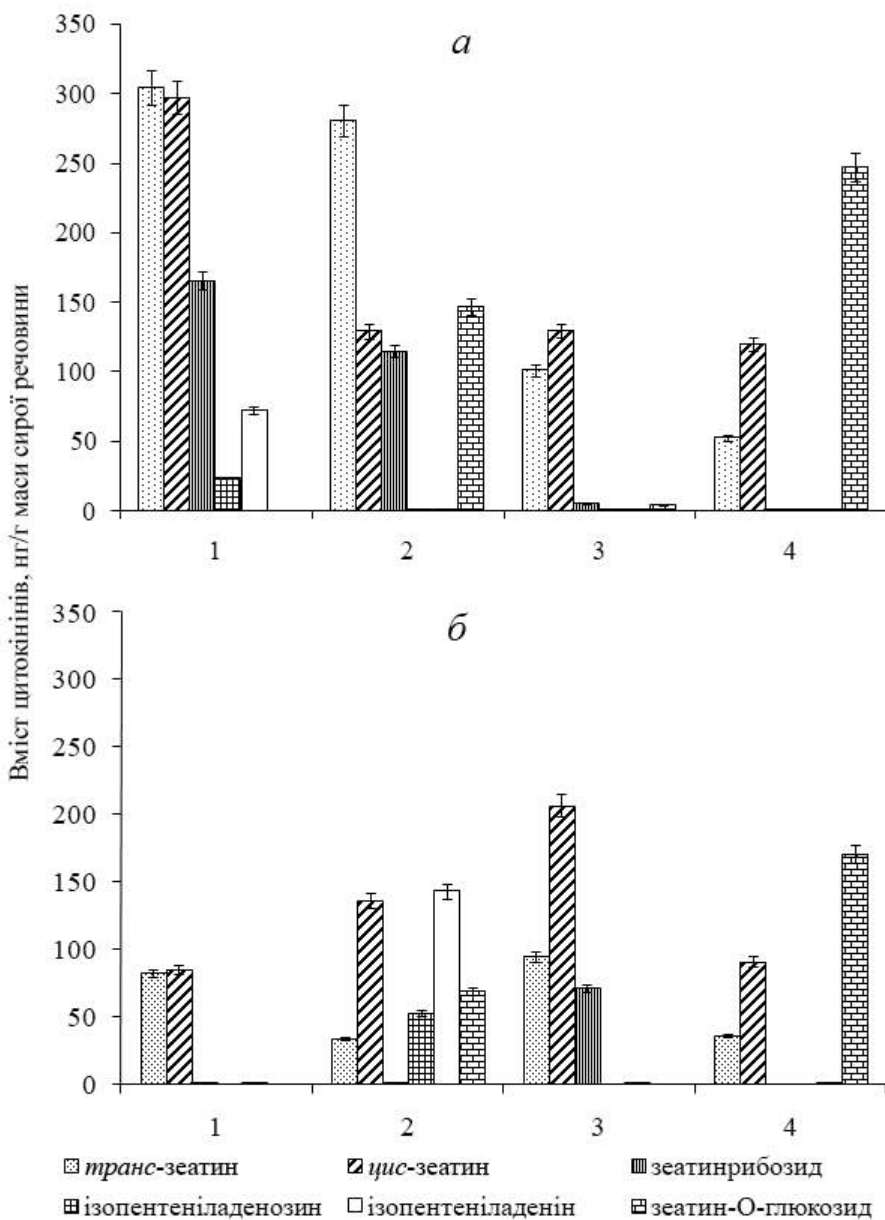


Рис. 8. Вміст цитокінінів у ваях (а) та кореневищах (б) папороті *Polystichum aculeatum* на різних стадіях розвитку спорофіта: 1 – стадія інтенсивного вегетативного росту, 2 – стадія формування спорангіїв, 3 – стадія зимової вегетації, 4 – стадія дозрівання спор

зеатину і зеатинрибозиду залишався значним, з'являлася кон'югована форма зеатину. В період зимової вегетації у ваях зберігалася достатньо висока концентрація *транс*-зеатину. Оскільки рослини *P. aculeatum* залишаються зеленими взимку, можна припустити, що функція цитокінінів у ваях в цей час полягає в підтримці певного рівня фотосинтетичних пігментів. Раніше здатність цитокінінів контролювати накопичення хлорофілу і регулювати активність генів, відповідальних за стабільність співвідношення хлорофілів *a/b*, була показана у проростків рису (Talla et al., 2016). Позитивний вплив цитокінінів на утримання хлорофілу і, як наслідок, на термін зеленіння рослин і затримку старіння виявлено у спорових, зокрема в моху *Bryum argenteum* Hedw. (Sabovljević et al., 2010). Під час дозрівання спор, коли ріст папороті припинявся, вміст активних цитокінінів значно знижувався, натомість зростав рівень кон'югату (зеатин-О-глюкозиду) та *цис*-зеатину. Отже, спектр і вміст цитокінінів, очевидно, контролюють інтенсивність ростових процесів органів і функціональний стан *P. aculeatum*.

## **5.2. Локалізація і функції цитокінінів у вегетативних органах квіткових рослин**

Регуляція поділу клітин та їхньої диференціації – одна з головних функцій цитокінінів у рослин. Здатність індукувати мітоз у культурі тканин багатьох рослин була встановлена ще на початку дослідження цих гормонів. Високі рівні цитокінінів присутні в усіх мітотично активних точках рослини, тоді як у тканинах, де поділ клітин не відбувався, цитокініни містилися в дуже низьких концентраціях, а нанесення екзогенних цитокінінів на органи з незначним вмістом цитокінінів індукувало цитокінез (Dewitte et al., 1999; Schaller et al., 2014). У синхронізованій культурі тканин тютюну BY-2 спостерігалися коливання вмісту зеатину протягом клітинного циклу з різким

піком наприкінці S-фази і при входженні в мітоз (Redig et al., 1996). Існують докази, що цитокініни задіяні в регуляції всіх стадій клітинного циклу. Так, у арабідопсису цитокініни стимулюють експресію гена *CYCD3*, який кодує білок із класу циклінів, відповідальний за перехід G1/S у клітинному циклі (Riou-Khamlichi et al., 1999), причому у різних тканинах ця дія гормонів мала свою специфіку. Дослідження рослин тютюну, мутантних за генами циклін-залежних кіназ, ключових ферментів переходу G2/M, показали, що цей процес також контролюється цитокінінами, причому саме регуляція такого переходу може бути критичною для протікання усього мітозу (Francis, 2011; Shaller et al., 2014).

Таким чином, цитокініни, безперечно, відіграють роль регулятора у клітинному циклі рослин, проте така регуляція може бути як позитивною, так і негативною в різних тканинах, наприклад в апікальних меристемах пагону й кореню. У цих двох типах меристем існують риси подібності й відмінності у цитокініновому сигналінгу. Перші стосуються розмірів меристем. Наприклад, потрійні мутанти за рецепторами цитокінінів демонстрували деградовані меристеми у пагонів і коренів через зменшення клітинного поділу (Higuchi et al., 2004). Застосування екзогенних цитокінінів або підвищення чутливості до них за рахунок мутацій стимулювало поділ клітин у кореневому центрі, що перебуває у спокої (Zhang et al., 2013), а у мутантів з оверекспресією цитокініноксидази і відповідно зниженим рівнем цитокінінів зменшувалися розміри верхівкової меристеми пагона (Werner et al., 2001, 2003). Більшість існуючих даних свідчить про протилежну дію цитокінінів у верхівках пагонів і коренів (Kyozuka, 2007; Skylar, Wu, 2011).

Як відомо, в культурі тканин цитокініни необхідні не лише для утворення недиференційованих калусів, але й для подальшого утворення нової верхівкової меристеми пагону, де

вони стимулюють проліферацію недиференційованих клітин і власне формування самої меристеми (Shaller et al., 2014). У верхівкових меристемах пагона рівень цитокінінів регулюється високоспецифічними білками родини KNOX, які відповідають за утворення меристеми. Експресія генів KNOX забезпечує високий рівень цитокінінів, а також репресує біосинтез гіберелінів, встановлюючи певний баланс цих гормонів, що і сприяє формуванню меристеми, а підйом рівня цитокінінів збільшує експресію KNOX, утворюючи таким чином регуляторну петлю зі зворотним зв'язком (Shani et al., 2006). Дія транскрипційного фактора SHOOT-MERISTEMLESS (STM), який інгібує клітинну диференціацію й підтримує високу специфічність клітин апікальної меристеми пагона арабідопсису, також тісно пов'язана з рівнем цитокінінів і цитокінін-залежним цикліном CYCD3 (Scofield et al., 2013). Мутанти *stm* частково відновлюють фенотип при нанесенні екзогенних цитокінінів або при оверекспресії одного з генів їхнього біосинтезу IPT7 (Jasinski et al., 2005), а індукція STM позитивно регулює активність IPT7 (Miyawaki et al., 2006). Крім того, транскрипційний фактор WUSCHEL (WUS), який позитивно регулює проліферацію клітин верхівкової меристеми пагона, безпосередньо репресує деякі білки-регулятори відповіді на цитокініни типу А, що підвищує чутливість клітин до цитокінінів (Sklyar, Wu, 2011). Високий рівень цитокінінів у верхівковій меристемі пагона підтримується локальною експресією одного з генів їхнього біосинтезу – *LOG*. Зокрема, *LOG4* експресується в невеликій групі клітин – шарі L1 меристеми (Chickarmane et al., 2012). При цьому утворюються активні форми цитокінінів, але вміст зеатину значно перевищує вміст ізопентеніладеніну (Sklyar, Wu, 2011). Такий дуже локальний синтез активних форм цитокінінів у тканині, розвиток якої контролюється цими гормонами, свідчить на користь їхньої паракринної функції.

На відміну від пагонів, в апікальних меристемах коренів цитокініни відіграють роль негативного регулятора росту. Так, у мутантів зі зниженим рівнем цитокінінів швидкість видовження коренів була значно вище, а кількість бічних й адвентивних коренів – більше у порівнянні із диким типом рослин, зростала також маса коренів і розмір меристеми (Werner et al., 2003). Підсилений ріст коренів у цитокінін-дефіцитних рослин відбувався за рахунок збільшення кількості клітин, проте їхні розміри не змінювалися, тобто клітини кореневої меристеми більш тривалий час знаходилися в меристематичній фазі, проходячи більше мітотичних циклів перш, ніж перейти до видовження (Schmülling et al., 2005; Dello Ioio et al., 2007). Нанесення екзогенних цитокінінів призводило до зменшення числа бічних коренів (Li et al., 2006). Цитокініни стимулювали швидкість клітинної диференціації у зоні видовження кореня (Dello Ioio et al., 2007), сам процес переключення від клітинного поділу до диференціації також залежить від рівня ендогенних цитокінінів (Werner et al. 2003). Отже, фізіологічні концентрації цитокінінів стримують розвиток кореневої системи.

Специфічною рисою контролю проліферації клітин у коренях є дуже тісний зв'язок між системою сигналінга цитокінінів й ауксинів. Ці два гормони діють у протилежних напрямках, підтримуючи баланс між поділом і диференціацією клітин у меристемах. Білки-регулятори відповіді цитокінінів типу В – ARR1, ARR10 і ARR12 – проявляють максимальну активність у перехідній субмеристематичній зоні кореня (Dello Ioio et al., 2008). ARR1 і ARR12 стимулюють експресію гена SHORT HYPOCOTYL 2 (SHY2), який є репресором сигналіngu ауксинів і запобігає активації ауксин-зелажних генів, і в такий спосіб пригнічують транскрипційну відповідь на ауксини (Moubayidin et al., 2010). Цитокініни також регулюють активність ауксинів у коренях, інгібуючи рівень білків-транспортерів ауксинів (родина PIN-білків), сприяючи їхній деградації у вакуолях



(Zhang et al., 2013). Такий механізм негативної дії цитокінінів має місце і при інгібуванні ними утворення примордіїв бічних коренів (Marhavý et al., 2011). Чутливість до мутацій цитокінінового біосинтезу або сигналінгу значно більша у молодих примордіїв бічних коренів, ніж у розвинутих (Bielach et al., 2012). Було висунуто припущення, що інгібуючий ефект цитокінінів проявляється на стадії індукції примордія в перициклі, після чого розпочинається синтез цих гормонів у самому примордії (Debi et al., 2006). Було також показано, що ріст бічних коренів залежить від цитокінінів, синтезованих у головному корені (Высоцкая и др., 2007). Отже, цитокініни діють на самому початку закладання і розвитку бічних коренів і регулюють потік ауксинів, необхідний для цього процесу (Shaller et al., 2014).

Дослідження останніх років показали, що, окрім впливу на сигналінг ауксинів, цитокініни в корені можуть контролювати диференціацію клітин прямим шляхом за рахунок утворення регуляторних циклів зі зворотним зв'язком із транскрипційним фактором PHABULOSA (Dello Ioio et al., 2012) та з білком CCS52A1, активатором убіквітін-лігази E3, що забезпечує проходження анафази мітозу (Takahashi et al., 2013).

Таким чином, цитокініни, безперечно, відіграють суттєву регуляторну роль у формуванні апікальної меристеми як у пагонах (позитивна регуляція), так і у коренях (негативна регуляція). Найскладніше питання, яким чином один і той самий гормон може виконувати протилежні функції, поки що не має однозначної відповіді. Існує припущення, що напрямок дії цитокінінів залежить від їхньої концентрації в тканинах рослин: при низькій концентрації вони активують мітоз, а при високій – інгібують його (Shaller et al., 2014). Це підтверджують експерименти із застосуванням екзогенних цитокінінів *in vitro* (Uzelac et al., 2012). Однак чітких кореляцій при дослідженні ендогенних гормонів не виявлено. Крім того,

дія цитокінінів на клітинний цикл у меристемах залежить від багатьох тканиноспецифічних факторів і від взаємодії з іншими гормонами. Чіткої картини інтеграції цих компонентів поки що немає, не виключено, що їхня кількість значно більша. Для з'ясування механізмів дії цитокінінів як факторів регуляції клітинного циклу в рослині необхідні подальші дослідження.

У коренях цитокініни виконують не тільки функції формотворчого регулятора, але й контролюють їхню здатність поглинати поживні речовини з навколишнього середовища, останні в свою чергу впливають на функції цитокінінів і, відповідно, на ріст і розвиток рослини (Argueso et al., 2009). Найкраще досліджено роль цитокінінів в асиміляції азоту (Kiba et al., 2011). Відомо, що рівень доступних нітратів впливає на рівень ендогенних цитокінінів: додавання нітратів до коренів арабідопсису призводить до зростання в них кількості різних форм ендогенних цитокінінів (Takei et al., 2001a, 2004b). При цьому збільшується експресія генів *IPT3* та *IPT5* у коренях (Miyawaki et al., 2004). Руйнування гену *IPT3* значно послаблює нітрат-залежну індукцію синтезу цитокінінів, а додавання азоту у формі амонію активує лише ген *IPT5* (Takei et al., 2004b). У риса найбільшу індукцію *IPT*-генів спричиняв глютамін, при цьому домінантним геном був *IPT4* (Kamada-Nobusada et al., 2013). Отже, мішень для регуляції біосинтезу цитокінінів залежить від того, в якій формі асимілюється азот.

Цитокініни відіграють ключову роль в органогенезі азотфіксуючих кореневих бульбочок у бобових рослин. Екзогенно нанесений БАП не тільки збільшує кількість бульбочок, але й стимулює утворення їх у коренях (Hesckmann et al., 2011). Обробка цитокінінами індукує експресію генів, що кодують транскрипційні регулятори MsENOD2 та нодулін ENOD40, специфічні для ініціації та формування бульбочок (Suzaki et al., 2013). Цитокініни також покращують ефективність

азотфіксації, підвищуючи активність нітратредуктази та нітрогенази (Frugier et al., 2008).

Таким чином, цитокініни є найважливішими регуляторами азотного метаболізму в рослин. Постачання інших елементів живлення також відбувається за їхньої участі. У рослин, які вирощувалися в умовах фосфорного голодування, значно зменшувався рівень ендогенних цитокінінів (Horgan, Wareing, 1980). Мутанти, не здатні акумулювати фосфор, змінювали чутливість до цих гормонів (Lan et al., 2006). Гени, які включаються при дефіциті фосфору, гальмуються цитокінінами (Wang et al., 2006). Цитокініни індукують гени, що кодують ферменти асиміляції та транспорту сульфатів, хоча їхній ендогенний рівень не змінюється при сульфатному голодуванні (Ohkama et al., 2002; Maruyama-Nakashita et al., 2004). Експресія генів, які відповідають на асиміляцію заліза, негативно регулюється цитокінінами, а додавання заліза до коренів рослин, що вирощувалися за дефіциту цього елемента, активує гени *IPT3* й регулятори відповіді на цитокініни типу А (Seguela et al., 2008). Зниження рівня ендогенних цитокінінів відбувається і при нестачі калію. Дефіцитні за цитокінінами рослини більш стійкі до відсутності цього елемента живлення, а рослини з гіперсинтезом цитокінінів – більш чутливі (Nam et al., 2012).

Наведені дані свідчать, що за допомогою цитокінінового сигналіngu не тільки передається інформація про доступність поживних елементів для коренів, але й відбувається регуляція їхнього засвоювання рослиною.

Цитокініни беруть участь у регуляції росту й розвитку листків упродовж всього онтогенезу рослини. Вивчення змін вмісту цитокінінів у листках солодкого перцю в процесі їхнього розвитку показало наявність кореляції між швидкістю розтягування листка та вмістом зеатину та зеатинрибозиду (Ulvskov et al., 1992). У квасолі спостерігали накопичення

кон'югатів цитокінінів (зеатинглюкозиду) під час уповільнення й припинення росту листка (Ситник та ін., 2002). Найвищий рівень цитокінінів у листках м'яти відмічено на початку зацвітання, найнижчий – у фазі відцвітання (Бельнская и др., 1994). Для початку онтогенеза листкових пластинок *Bryophyllum crenatum* характерно підвищення рівня ендогенних цитокінінів з подальшим його зниженням зі старінням (Slabý, Šebánek, 1985). Нанесення екзогенного кінетину значно підвищувало кількість та площу листків *Cajanus cajan* (Mukherjee, Kumar, 2007). У трансгенних рослин арабідопсису, дефіцитних за цитокінінами, розростання листкової пластинки було суттєво редуковано за рахунок зменшення кількості клітин, проте ріст листків продовжувався навіть після зацвітання (Werner et al., 2003). Екзогенні цитокініни сприяли збільшенню кількості транскриптомів у молодих листків томата і стимулювали їхній розвиток, активуючи експресію цитокінін-залежних генів (Shi et al., 2013). Цитокініни є необхідним регулятором первинних процесів утворення листової пластинки з латеральних ділянок апікальної меристеми пагона, де вони медіюють активність KNOX-білків, відповідальних за продукування меристематичних клітин. Проте по завершенні фази недетермінованого росту і з переходом до первинного й вторинного морфогенезу цитокініни діють незалежно від цих білків, а їхнє функціонування й морфогенетична активність стають все більш залежні від ауксинів, і зрештою форма та розмір листків визначається співвідношенням цих двох гормонів (Shany et al., 2010). Дослідження мутантів арабідопсису *IPT7* і *CKX3* продемонстрували залежність форми листків і мозаїчність їхніх клітин від рівня ендогенних цитокінінів (Li et al., 2013a).

Одним з найвідоміших ефектів цитокінінів у листках є затримання їхнього старіння та пожовтіння. У значній кількості дослідів показано, що екзогенне нанесення цитокінінів на

листки та пагони багатьох видів рослин затримує старіння як зрізаних, так й інтактних листків при переміщенні їх у темряву і активуванні при цьому синтезу білка й транспорту асимілятів. Позеленення старіючих листків спостерігалось головним чином у місці нанесення екзогенного гормону (Кулаєва, 1972). Показано корелятивну залежність між початком і розвитком старіння листків і зменшенням вмісту ендогенних цитокінінів у них (Singh et al., 1992). У багатьох рослин зниження надходження цитокінінів у листки з ксилемним соком також провокувало старіння (Gan, Amasino, 1996). Проте регуляція старіння листків відбувається не лише за рахунок транспорту цитокінінів від коренів, але й через зменшення їхнього локального синтезу. Транскриптомний аналіз листків арабідопсису показав, що під час старіння різко знижується експресія генів біосинтезу цитокінінів і збільшується активність цитокініноксидаз (Breeze et al., 2011). Несподівані результати було отримано при дослідженні мутантів. У рослин з гіперсинтезом цитокінінів не виявлено збільшення тривалості життя листків, а у цитокінін-дефіцитних рослин не спостерігалось передчасного старіння листків, кількість хлорофілу залишалася такою самою, як і в листках рослин дикого типу (Eckardt, 2003). Це свідчить про складний характер взаємозв'язків між регуляцією старіння й сигналінгом цитокінінів, їхню опосередкованість іншими факторами. Зокрема у рослин багатьох видів виявлено білок старіння SAG12 (Senescence Associated Gene12), який є промотером експресії *IPT*-генів і обмежує рівень цитокінінів у старіючих листках (Zwack, Rashotte, 2013). Крім того, в регуляції транскрипційної відповіді на цитокініни при старінні задіяні компоненти сигналінгової системи цих гормонів – рецептор АНК3, білок-регулятор відповіді ARR2 та транскрипційний фактор CRF6 (cytokinin response factor) (Kim et al., 2006). Останній є негативним регулятором старіння листків, а мутанти *crf6* майже повністю втрачають здатність

затримувати старіння під впливом цитокинінів (Zwack et al., 2013). Нещодавно виявлено транскрипційні фактори *CIN-TCP*, антагоністи цитокинінів, які відповідають за детермінованість росту листків і їхнє дозрівання. Експресія генів *CIN-TCP* і, зокрема один з цих факторів *TCP4*, безпосередньо індукують негативний білок-регулятор відповіді на цитокиніни *ARR16*, тим самим знижуючи чутливість листків до цитокинінів (Efroni et al., 2013).

Слід зауважити, що здатність цитокинінів затримувати старіння листків пов'язана з регуляцією ними переміщення асимілятів. Установлено вплив цих гормонів на активність інвертази клітинної стінки, яка розщеплює сахарозу на гексозні мономери (Balibrea Lara et al., 2004). Тісний взаємозв'язок між функціонуванням цього ферменту, *IPT* і *SAG12*, а також їхню роль у цитокинін-залежному затриманні старіння листків показано у рослин томату (Jin et al., 2009).

Одним з основних проявів затримки старіння листків за дії цитокинінів є їхнє позеленіння, при цьому накопичуються як фотосинтезуючі пігменти, так і білки тилакоїдних мембран хлоропластів (Кулаева, Кузнецов, 2002; Kulaeva et al., 2002). Хлоропласти є чи не найважливішою мішенню дії цитокинінів у клітині. Відомо, що цитокиніни беруть участь у контролі біогенезу хлоропластів (Zavaleta-Mancera et al., 1999), активують диференціацію хлоропластів із пластид (Longo et al., 1979), експресію генів, що кодують білки хлоропластів (Lochmanová et al., 2008; Zubo et al., 2008), стимулюють синтез хлорофіла і каротиноїдів, які необхідні для формування фотосистеми II (Yaronskaya et al., 2006), активують фотосинтез (Yaronskaya et al., 2006). Хлоропласти містять ферменти біосинтезу цитокинінів, а також повний спектр ендогенних цитокинінів, включаючи вільні основи та їхні рибозиди, риботиди, глюкозиди (Hirose et al., 2008). Метаболізм хлоропластних цитокинінів певною мірою незалежний від дії ферментів цитоплазми (Polanska et al.,

2007). Трансформовані рослини з репресованими функціями рецепторів цитокінінів і білків-регуляторів відповіді типу В мали знижений рівень хлорофіла і недорозвинені хлоропласти (Riefler et al., 2006). Нещодавно знайдено 2 родини цитокінін-залежних білків-транскрипційних факторів (*GNC/CGA1* та *CRF*), які регулюють розвиток хлоропластів із пропластид, їхній ріст і поділ (Okazaki et al., 2009; Köllmer et al., 2011; Chiang et al., 2012). Експресія генів *GNC/CGA1* та *CRF* значно активується за дії екзогенних цитокінінів, а мутації цих генів впливають на кількість біомаси, хлоропластів, вміст хлорофілу та індекс продуктивності рослин рису (Hudson et al., 2013).

Таким чином, першорядна роль цитокінінів у регуляції формування й функціонування хлоропластів і фотосинтезуючих пігментів не викликає сумніву. Проте шляхи сигналізу цитокінінів у хлоропластах, їхній зв'язок з іншими компартментами цитоплазми і ядром невідомі. Наявність у хлоропластах цитокінін-зв'язуючих білків з транскрипційною активністю вказує на можливість існування відносно автономної системи рецепції гормонів у цих органелах (Brovko et al., 2010).

Регуляторні функції цитокінінів у листках не обмежуються контролем їхнього росту та розвитку. Ці гормони можуть також впливати на транспірацію рослини, стимулюючи відкривання продихів. Екзогенні цитокініни індуюють цей процес, виступаючи при цьому антагоністами АБК і синергістами ауксинів (Acharya, Assmann, 2009). Механізм такої дії поки не відомий. Встановлено лише, що цитокініни інгібують індуковане АБК закриття продихів, модулюючи біосинтез етилену (Tanaka et al., 2006), знижують рівень перекису водню (Song et al., 2006) та оксиду азоту (She et al., 2006).

Сполучення між окремими органами рослини відбувається головним чином через судинні пучки. Цитокініни виявляються як в ксилемному, так і у флоемному соці (Jackson, 1993).

Було встановлено переважання *транс*-зеатину в ксилемі та ізопентеніладеніну у флоемі. Показана здатність цих форм передавати довгодистанційні сигнали відповідно в акропетальному і базипетальному напрямках, при цьому варіації структури бокового ланцюга молекули гормону, вірогідно, медіюють різні біологічні сигнали (Hirose et al., 2008; Романов, 2009).

Незважаючи на суттєві досягнення в пізнанні механізмів участі цитокінінів у передачі сигналів через судинну систему, роль цих гормонів у регуляції росту самого стебла мало досліджена. У проростків квасолі спостерігалось збільшення вмісту цитокінінів у гіпокотилі при переході до росту розтягуванням (Vedenicheva et al., 1990), тоді як у проростків кукурудзи цей процес супроводжувався зменшенням вмісту цитокінінів (Москалева, 1990). У дорослих рослин цитокініни стебла вивчалися у зв'язку з інтеркалярним ростом. Було встановлено існування концентраційного градієнту *транс*-зеатину і *транс*-зеатинрибозиду в стеблі кукурудзи (вміст гормонів знижувався в базипетальному напрямку), а також у середині кожного міжвузля (Hansen et al., 1984). Цитокініни необхідні для формування судин ксилеми та флоєми стебла (Aloni, 1995), вони стимулюють диференціацію протоксилеми і розвиток васкулярного камбію (Dettmer et al., 2009). Дефіцит цитокінінів призводив до значного зниження активності камбіальних клітин, як наслідок, до зменшення кількості клітин судинних пучків (Werner et al., 2003). У коренях мутантів за рецепторами цитокінінів судинні пучки склалися виключно з протоксилеми і не утворювали флоєми та метаксилеми (Mähönen et al., 2006). Подібний фенотип спостерігали й при інших мутаціях сигнальної системи цитокінінів (Yokooyama et al., 2007). Цитокініни відіграють роль позитивного регулятора розвитку васкулярного камбію, що розташований між ксилемою та флоємою судин. Порушення генів біосинтезу



цитокінінів призводить до повної втрати цього камбію як в стеблі, так і в корені, а нанесення екзогенних цитокінінів виправляє цей дефект (Matsumoto-Kitano et al., 2008). Отже, окрім переміщення по стеблу з ксилемним і флоемним потоком і виконання сигнальної функції між коренями і пагоном, цитокініни беруть участь у регуляції формування і росту самого стебла.

### 5.3. Регуляція репродуктивного розвитку рослин цитокінінами

Важливим моментом в онтогенезі рослин є перехід від вегетативного стану в репродуктивний. Незалежно від того, чи індукується цвітіння тривалістю світлового та темного періоду впродовж доби (явище фотоперіодизма) чи залежить від вікових змін, у квіткових рослин воно знаходиться під контролем гормональних речовин, які утворюються в листках і потім переміщуються в апікальні стеблові меристеми, де відбувається зміна морфогенезу з вегетативного на репродуктивний (Гусаковская, Блинцов, 2006).

Включення цитокінінів у контроль цвітіння досліджувалося головним чином у фотоперіодично залежних рослин. У гірчиці *Sinapis alba* цвітіння стимулюється одним лише довгим днем, при цьому рівень цитокінінів суттєво підвищувався у листках та їхньому флоемному соці, що збігалось з рухом флорального стимулу (Bernier et al, 1981). Подібне спостерігалось й у рослин арабідопсису (Corbesier et al., 2003) та *Chenopodium* (Macháková et al., 1993). У подальшому вміст цитокінінів зростав в апікальній меристемі пагона на стадії ранньої активації мітотичного поділу клітин (Jacqumard et al., 2002). Нанесення екзогенних цитокінінів на вегетативні органи рослин гірчиці, що вирощувались у світловий період дня, індукувало в апікальній меристемі пагонів клітинні та молекулярні зміни, характерні для переходу до цвітіння (Bernier et al, 2002).

Нанесення розчину БАП на корені рослин арабідопсису при вирощуванні у гідропонній культурі стимулювало цвітіння навіть у світловий період дня. Це свідчить про те, що при ініціації цвітіння цитокініни можуть діяти як довгодістанційні сигнали (D'Aloia et al., 2011). Рослини арабідопсису з підвищеним вмістом цитокінінів демонстрували більший розмір флоральної меристеми і суцвіть (Bartrina et al., 2011), а дефіцитні за цитокінінами мутанти затримували цвітіння на 3 місяці (Werner et al., 2003). За останніми даними, мішенню основної дії цитокінінів у стимуляції цвітіння є так званий «організаційний центр» апікальної меристеми, що складається з невеликої кількості клітин, які в подальшому продукують флоральну меристему. Цитокініни активують мітози цих клітин та беруть участь у висхідній регуляції ключового гена цвітіння *SOC1* у них (Bernier, 2013). Слід зауважити, що дії самих лише цитокінінів не достатньо для індукції флоральних примордіїв, нещодавно виявлено декілька транскрипційних факторів, які разом із цитокінінами задіяні в процесі формування флоральної меристеми (Han et al., 2014).

Дані щодо участі цитокінінів у регуляції цвітіння у нейтральних до світлового періоду дня рослин суперечливі й нечисленні. Екзогенні цитокініни стимулювали цвітіння у різних видів таких рослин у сприятливих для цвітіння умовах (Kinet et al., 1993). Проте у фотоперіодично нейтральних тютюнів наприкінці вегетативного росту і при переході до репродукції показано різке зниження вмісту цитокінінів (Dewitte et al., 1999). Пізно квітучі мутанти томатів прискорювали зацвітання при додатковому постачанні екзогенними цитокінінами (Dielen et al., 2001), а рослини салату та гороху, збагачені цитокінінами за рахунок оверекспресії генів їхнього синтезу, затримували цвітіння (McCabe et al., 2001). Ці факти підтверджують припущення Берньє (Bernier, 1981), що дія цитокінінів у репродукційному процесі є строго залежною від певної

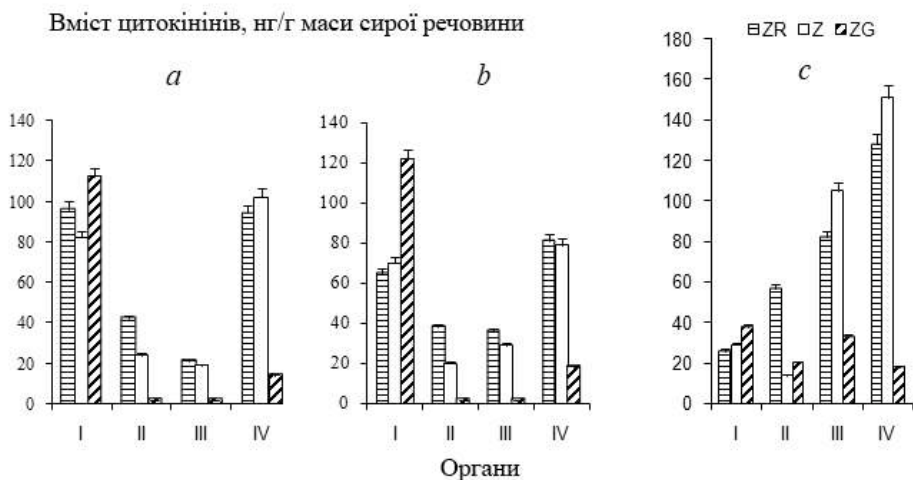


Рис. 9. Вміст цитокінінів в органах *Phaseolus vulgaris* у період бутонізації (а), на початку цвітіння (b), у період запилення квіток і початку закладання плодів (c): I – трійчастий листок біля суцвіття; II – міжвузля біля суцвіття; III – бутони; IV – корінь

концентрації, а будь-які відхилення та супероптимальні дози справляють інгібіторний ефект.

Результати аналізу змін просторово-часового розподілу цитокінінів в органах *Phaseolus vulgaris* L. вказують на те, що процес репродукції контролюється цими гормонами як складовими гормональної системи, яка активується в репродуктивних органах у період запилення квіток і раннього ембріогенезу (Веденичова, 2007). В період утворення бутонів вміст зеатину й зеатинрибозиду був найвищим у листках і коренях (рис. 9, a). На початку цвітіння спостерігалось незначне зниження рівнів вільних цитокінінів у листках і коренях, трохи підвищувався їхній вміст у квітках (рис. 9, b).

Концентрація цитокінінів в органах суттєво змінювалася після запилення квіток і початку закладання плодів. При цьому вміст усіх цитокінінів значно знижувався у листках і підвищувався у коренях, у міжвузлях зростав рівень зеатинрибозиду.

**Таблиця 2. Вміст цитокінінів в органах *Zea mays* у репродуктивний період розвитку, нг/г маси сирової речовини**

Орган	Цитокінін		
	ZR	Z	ZOG
Стадія формування квіток і розгортання 5-го листка			
Волоть	21 ± 3	14 ± 2	0
Листок біля волоті	306 ± 14	225 ± 9	242 ± 8
Качан	58 ± 6	0	426 ± 10
Листок біля качана	106 ± 5	122 ± 12	174 ± 5
Корінь	330 ± 11	461 ± 16	502 ± 17
Стадія формування пиляків і розгортання 7-го листка			
Волоть	28 ± 6	59 ± 3	39 ± 3
Листок біля волоті	81 ± 3	150 ± 5	68 ± 3
Міжвузля біля волоті (5-е)	29 ± 7	69 ± 1	0
Качан	138 ± 9	85 ± 3	48 ± 3
Листок біля качана	69 ± 4	112 ± 6	52 ± 3
Міжвузля біля качана (7-е)	10 ± 1	25 ± 4	5 ± 1
Корінь	115 ± 6	290 ± 11	0
Стадія виходу волоті й розгортання 11-го листка			
Волоть	86 ± 5	147 ± 7	58 ± 4
Листок біля волоті	44 ± 3	76 ± 5	30 ± 3
Міжвузля біля волоті (11-е)	11 ± 2	88 ± 6	0
Качан	352 ± 7	402 ± 14	0
Листок біля качана	18 ± 3	20 ± 2	сліди
Міжвузля біля качана (7-е)	0	31 ± 2	0
Корінь	133 ± 8	191 ± 9	0

Найбільша кількість зеатинрибозиду та зеатину спостерігалася в репродуктивних органах (рис. 9, с).

Ріст рослин *Zea mays* L. та формування генеративних органів також супроводжувалися суттєвими змінами у вмісті як вільних, так і зв'язаних цитокінінів в окремих частинах рослини (табл. 2). Вегетативним органам (листки, корені, міжвузля) було притаманне поступове зниження рівня цитокінінів. Паралельно відбувалося його збільшення у генеративних (качані і волоті).

Вочевидь, у кукурудзи закладання генеративних органів не потребує великої кількості цитокінінів, тоді як при переході до цвітіння регуляторна роль цих гормонів зростає. Вміст зеатину в міжвузлях у декілька разів перевищував вміст зеатинрибозиду, що вказує на здатність інтеркалярних меристем стебла кукурудзи синтезувати цитокініни (Jameson, Song, 2016). Збільшення вмісту цитокінінів у генеративних органах не супроводжувалося його підвищенням у коренях. У міжвузлях, які знаходилися поруч, він дещо збільшувався. Це свідчить про те, що у кукурудзи репродуктивні органи можуть забезпечувати себе цитокінінами за рахунок синтезу *in situ* і частково отримувати їх від інтеркалярних меристем.

Отже, в процесі репродуктивного розвитку одно- та дводольних рослин відбувається суттєвий перерозподіл цих гормонів між органами, а також спостерігаються зміни у співвідношеннях активних і зв'язаних форм (Веденичова, Мусатенко, 2008).

Кількість цитокінінів впливає на формування квіток та їхнє запилення. У мутантних рослин рису з підвищеним вмістом цитокінінів закладалося значно більше квіток у порівнянні з диким типом (Ashikari et al., 2005). Квітки цитокінін-дефіцитних рослин не відрізнялись зовні від нормальних, але складались зі значно меншої кількості клітин, які були на 80% більше за розмірами.

Перші квітки не продукували пилок, а пізніші – утворювали дуже невелику його кількість (Werner et al., 2003). У арабідопсису флоральний гомеотичний ген *APETALA1* (*AP1*), відповідальний за формування чашолистків і пелюстків квіток, кодує білок AP1, який безпосередньо пригнічує ген біосинтеза цитокінінів *LONELY GUY1* і активує ген цитокініноксидази *CKX* (Han et al., 2014), що свідчить про існування механізму оптимізації рівня цитокінінів під час розвитку квіток.

Важливу роль відіграють цитокініни при закладанні насінневих зачатків. Рослини з редукованим вмістом цитокінінів або порушеннями компонентів їхнього сигналіngu характеризувалися значно меншою кількістю сім'ябруньок і зниженою жіночою фертильністю (Kinoshita-Tsujimura, Kakimoto, 2011). Підвищення вмісту цитокінінів у мутантів *скх* корелювало зі зростанням числа сім'ябруньок (Bartrina et al., 2011). Деградація рецепторів цитокінінів у мутантів *ahk* призводила до припинення розвитку жіночого гаметофіту в арабідопсису (Cheng et al., 2013) або суттєвої його деформації (Bencivenga et al., 2012). Нормальний розвиток мегаспори залежав від постачання цитокінінів від оточуючих тканин (Cheng et al., 2013). Незапилені сім'ябруньки не накопичували цитокінінів (Rijavec et al., 2011). Проте надлишок цитокінінів може провокувати розвиток партенокарпічних плодів з меншими розмірами (Ariizumi et al., 2013).

Процеси розвитку та дозрівання насіння, від яких залежить продуктивність та розмноження рослин, також контролюються цитокінінами. Ці гормони відіграють суттєву роль в утворенні зародка, починаючи з моменту запліднення яйцеклітини (Гусаковская, Блинцов, 2004). Роботами багатьох авторів встановлено, що в насінні з ранніх стадій ембріогенезу присутні значні кількості цитокінінів (Van Staden, 1983; Morris, 1997; Rijavec, Dermastia, 2010), при цьому максимум їхнього вмісту припадає на момент запилення й подальші 6–12 днів (Emery et al., 2000; Mariotti et al., 2011). У насінні томату різні форми цитокінінів показували різну динаміку після запилення: зростав вміст *транс*-зеатину, тоді як вміст ізопентеніладеніну і рибозидів знижувався (Matsuo et al., 2012). Пік підвищення рівня цитокінінів, як правило, співпадав з періодом найбільш активного клітинного поділу (Saha et al., 1986; Morris, 1997). Рівень цитокінінів у насінні, що розвивається, контролюється активністю цитокініноксидази. Експресію

генів *CKX* встановлено в зародках й ендоспермі кукурудзи (Bilyeu et al., 2003; Vyrubalová et al., 2009), рівень експресії *CKX2* впливав на ріст і розвиток ендосперму і, відповідно, на розміри насіння арабідопсису (Li et al., 2013b). З дозріванням насіння вміст цитокинінів значно знижується. Так, у люпину на стадії фізіологічного дозрівання він складав лише 1% від максимального рівня на початку розвитку насіння (Emery et al., 2000). Змінюється і метаболізм цитокинінів у бік утворення кон'югованих форм (глюкозидів) (Van Staden, Davey, 1979).

Тривалий час дискутувалося питання, чи синтезує насіння, що розвивається, цитокиніни *de novo*, чи отримує їх від материнської рослини (Van Staden, 1983; Emery, Atkins, 2006). Дослідження останнього десятиріччя показали експресію генів біосинтезу цитокинінів у зародках та ендоспермі кукурудзи (Brugière et al., 2008; Vyrubalová et al., 2009; Rijavec et al., 2011). У насінні томата експресія цих генів і концентрація їхніх транскриптів співпадала з накопиченням цитокинінів після запилення й корелювала з мітотичним індексом (Matsuo et al., 2012). Ці дані остаточно підтверджують здатність насіння синтезувати цитокиніни під час ембріогенезу, але не виключає можливості надходження частини пулу ендогенних гормонів з ксилемним потоком. Вивчення концентраційних градієнтів у різних частинах насіння кукурудзи й оточуючих його тканинах (Rijavec et al., 2011) та переміщення мічених цитокинінів по рослині (Davey, Van Staden, 1981) доводить таку можливість. Імовірніше за все, мають місце обидва процеси, проте їхнє співвідношення залишається невідомим. Можна припустити, що воно змінюється в ході ембріогенезу, і з набуттям насінням автономності починає переважати синтез *de novo*.

Рівень ендогенних цитокинінів впливає на накопичення біомаси насіння та плодів. Так, більш масивні зернівки пшениці містили більше цитокинінів (Gabali et al., 1986). Ін'єкція БАП у рослини квасолі сприяла збільшенню маси сухої речовини

насіння (Clifford et al., 1987). Обробка екзогенними цитокінінами дозволила підвищити врожайність рису (Ray, Choudhuri, 1981), кукурудзи (Dietrich et al., 1995), ячменю (Mishra, Gaur, 1985). Цитокініни впливають також на розвиток оплодня в соковитих плодах (Kojima, 2005), підвищують урожайність томатів (Srivastava, Handa, 2005). Значне зростання вмісту ендогенних цитокінінів спостерігалось при формуванні й дозріванні плодів винограду (Böttcher et al., 2013) та ківі (Pilkington et al., 2013). Маніпуляції з генами біосинтезу і метаболізму цитокінінів, які призводили до підйому рівнів цих гормонів, також сприяли збільшенню врожайності рослин. Так, зменшення експресії генів *CKX* підвищувало продуктивність рису (Ashikari et al., 2005), ячменю (Zalewski et al., 2010), а оверекспресія гену *IPT* сприяла збільшенню кількості й ваги плодів томатів (Albacete et al., 2014). Такий ефект цитокінінів на врожайність пояснюється не тільки їхнім позитивним впливом на загальний стан рослини (затримка старіння, позеленіння, збільшення кількості суцвіть тощо), але й дією як атрагуючого фактора в насінні, що розвивається, здатністю притягувати асиміляти, необхідні для синтетичних процесів (Van Staden, 1983; Peleg et al., 2011). Відомо, що цитокініни регулюють транспорт і надходження органічних продуктів до органів (Ronzhina, Mokronosov, 1994). Властивість цитокінінів контролювати донорно-акцепторні відносини і перерозподіл поживних речовин встановлена для багатьох рослин (Kuiper, 1993; Roitsch, Ehneß, 2000). Локальна експресія гену *IPT* у тютюну викликала швидку мобілізацію живильних елементів до відповідного місця (Guivarc'h et al., 2002). Дефіцитні за цитокінінами рослини також змінювали потік асимілятів у пагонах і коренях (Werner et al., 2008). Ці дані свідчать про високу атрагуючу ефективність цитокінінів. Очевидно, високі рівні цих гормонів у дозріваючому насінні необхідні для створення сильних фізіологічних градієнтів, які



підтримують здатність насіння конкурувати з іншими органами рослини за поживні речовини.

Несподівані результати були отримані при дослідженні насінневої репродукції генетично трансформованих рослин. Як дефіцитні за цитокінінами, так і мутантні за генами рецепторів цитокінінів (*ahk*) рослини арабідопсису утворювали насіння удвічі більші за розмірами, ніж рослини дикого типу (Eckardt, 2003; Riefler et al., 2006), при цьому кількість насіння зменшувалася. Це відбувалося за рахунок збільшення як кількості, так і розмірів клітин. Таке явище поки що не знайшло пояснення, але може бути корисним для застосування в агропромисловості.

Цитокініни беруть участь у регуляції виходу насіння зі стану спокою і проростання. Обробка екзогенними цитокінінами та їхніми аналогами стимулювала переривання глибокого спокою та сприяла проростанню насіння багатьох видів рослин (Farrant et al., 1993; Kucera et al., 2005; Pedroza-Manrique et al., 2005; Niedźwiedz-Siegień, Bukłaha, 2006; Patil et al., 2012). Була отримана значна кількість даних про те, що в дводольних цитокініни беруть участь в мобілізації запасних поживних речовин (Веденичева, Мусатенко, 1990; Vedenicheva et al., 1991). Здатність осьових органів проростків синтезувати цитокініни вже в першу добу проростання була встановлена за допомогою мічених попередників ( $^{14}\text{C}$ -аденіну) у люпину (Nandi et al., 1988) та кукурудзи (Hoccart, Letham, 1990). Виявлена також можливість транспорту синтезованих у зародковій осі цитокінінів в ендосперм (Hutton, Van Staden, 1982; Hoccart et al., 1990). У роботах останніх років показано, що гени біосинтезу й деградації цитокінінів у колеоптилях і первинному корінці дводобових проростків кукурудзи експресуються вкрай незначно, проте існує можливість транспорту цитокінінів у формі глюкозидів з ендосперму в осьові органи, де в цей час

спостерігається інтенсивна експресія генів  $\beta$ -глюкозидази, яка перетворює їх на активні форми (Vugoubalová et al., 2009).

Всю видову сукупність насіння в залежності від того, зневоднюється воно на заключних стадіях розвитку чи ні, умовно можна розділити на дві групи. Більшість видів формує насіння ортодоксального типу, яке здатне зневоднюватися до повітряно-сухого стану без втрати життєздатності зародка (Harrington, 1972). Водночас насіння інших видів містить від 40 до 60% води (рекальцитратний тип) (Chin et al., 1984) і при висушуванні втрачає життєздатність. Навіть при зберіганні у вологих місцях життєздатність таких насінин досить коротка та не перевищує кількох місяців (Berjak et al., 1990). Види з рекальцитратним типом насіння поширені в зоні вологих тропіків, проте трапляються також і в помірному кліматі. Переважно це ранньоквітучі деревні рослини, насіння яких дозріває вже в середині травня і за сприятливих умов швидко проростає, формуючи до осені невеликі рослини. Насіння ортодоксального типу розподіляють на групи з вимушеним та органічним спокоєм (Bewley, 1997). Перше здатне проростати одразу ж після дозрівання, проте умови навколишнього середовища (низька температура, недостатня вологість або освітлення, тощо) стримують цей процес. Спокій другої групи насіння зумовлений або присутністю жорсткої оболонки, яка механічно перешкоджає проростанню, або наявністю у зародку складного метаболічного «блока», який інгібує запуск біохімічних реакцій, необхідних для проростання. Насіння з органічним (його ще називають фізіологічним) спокоєм потребує проходження стадії післязбирального дозрівання або стратифікації, коли відбуваються перетворення, що призводять до руйнування оболонки або зняття „блока”.

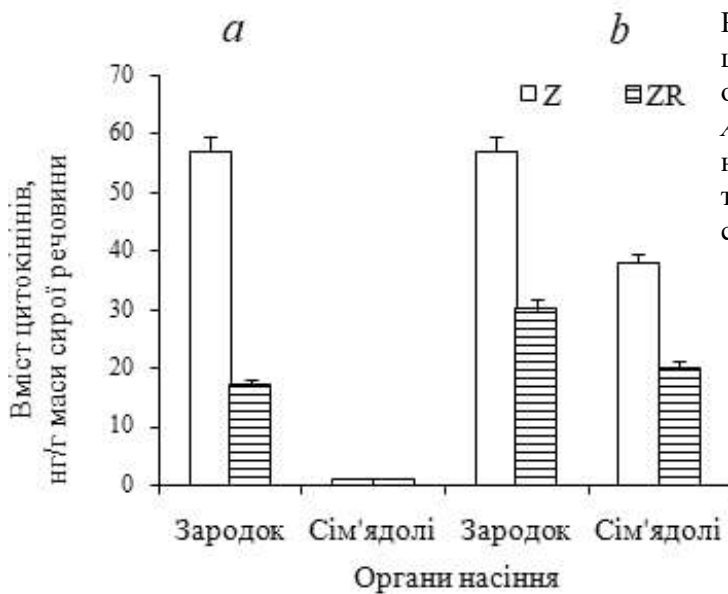
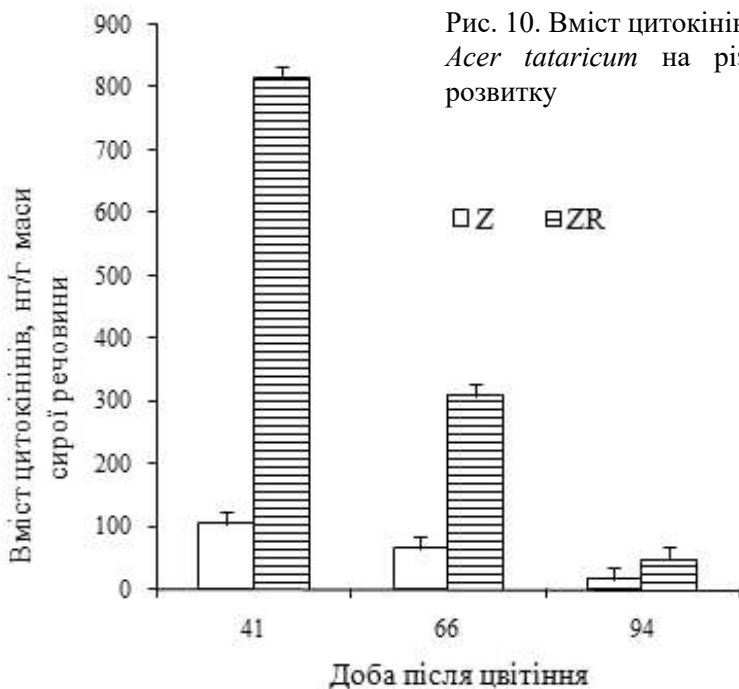
Проводили порівняльний аналіз динаміки цитокінінів при формуванні насіння деревних видів рослин з різним типом спокою: каштану кінського (*Aesculus hippocastanum* L.), яке

**Таблиця 3. Вміст фітогормонів у процесі розвитку насіння *Aesculus hippocastanum*, нг/г маси сирої речовини**

Фітогормон	Час після цвітіння, доба				
	40	90		140	
	Інтактне насіння	Зародкова вісь	Сім'ядолі	Зародкова вісь	Сім'ядолі
Z	230 ± 11	105 ± 5	92 ± 4	48 ± 2	84 ± 4
ZR	462 ± 23	168 ± 7	156 ± 7	62 ± 3	105 ± 5
АБК	203 ± 13	112 ± 10	91 ± 8	88 ± 7	138 ± 15
Z/АБК	1,13	0,94	1,01	0,55	0,61

характеризувалося вимушеним спокоєм, клена татарського (*Acer tataricum* L.), якому притаманний органічний тип спокою, а також рекальцитратного насіння клена сріблястого, в якого спокій відсутній (*Acer saccharinum* L.).

Максимальний вміст цитокінінів у насінні *A. hippocastanum* був присутній на початку формування зародка (табл. 3). На цей час рівень зеатинрибозиду удвічі перевищував вміст зеатину. На стадії інтенсивного росту в зародкових осях містилося дещо більше цитокінінів, ніж у сім'ядолях, тоді як наприкінці дозрівання це співвідношення змінювалося на протилежне. Спостерігалася тенденція до зменшення концентрації обох форм цитокінінів у насінні в процесі розвитку, при цьому зеатинрибозид переважав на всіх етапах дослідження. Можна припустити, що на стадії інтенсивного росту насіння цитокініни контролюють ріст зародкової осі, активуючи клітинний поділ, а на стадії накопичення поживних речовин виступають як атрагуєчий фактор у сім'ядолях. Наприкінці ембріогенезу зародки містять досить значну кількість цитокінінів, при цьому ультраструктура клітин характеризується наявністю повністю сформованих ядер, органел і мембранних структур, а також високим вмістом вільних і зв'язаних форм ІОК та АБК



(Musatenko et al., 2003). Порівняння співвідношення вмісту зеатину й АБК на різних стадіях розвитку насіння виявило зменшення цього показника удвічі від 40-ї до 140-ї доби дозрівання (табл. 3).

Зародки насіння *Acer tataricum* з органічним типом спокою містили високі концентрації цитокінінів на початку розвитку. По мірі дозрівання і зневоднювання насіння рівень цитокінінів у зародку знижувався до мінімальних значень (рис. 10). Насіння *A. tataricum* можна було вивести із стану глибокого спокою за допомогою холодної вологої стратифікації впродовж 3 місяців. За статусом цитокінінів (рис. 11) насіння у стані глибокого спокою, яке не проростає, і таке, що було стратифіковане і здатне проростати, відрізнялося лише за кількістю зеатинових гормонів у сім'ядолях.

Раніше було встановлено, що цитокініни беруть участь у мобілізації поживних речовин у запасуючих органах при проростанні насіння багатьох видів, активують у них гідролітичні й протеолітичні ферменти (Muñoz et al., 1990). Очевидно, відсутність активних форм цитокінінів у сім'ядолях *A. tataricum* впливає на доступність енергетичних і пластичних ресурсів, необхідних для проростання, і в такий спосіб визначає глибину спокою насіння. Крім того, у зародках *A. tataricum* під час дозрівання рівень вільної форми АБК зростав утричі, відповідно співвідношення вмісту зеатин/АБК збільшувалося у декілька разів на користь цитокініну. Після стратифікації значно зменшувався рівень ендогенної АБК, тоді як співвідношення зеатин/АБК зросло у понад 30 разів (табл. 3).

У зародках дозріваючого насіння *Acer saccharinum*, яке відноситься до рекальцитратного типу, було виявлено зеатинрибозид і дигідрозеатин, перший, як і у попередніх видів кленів, був домінуючим (рис. 12). Вміст цитокінінів поступово зростав з розвитком насіння і досягав максимуму на 30-й день після запилення, коли зародок набував найбільших лінійних

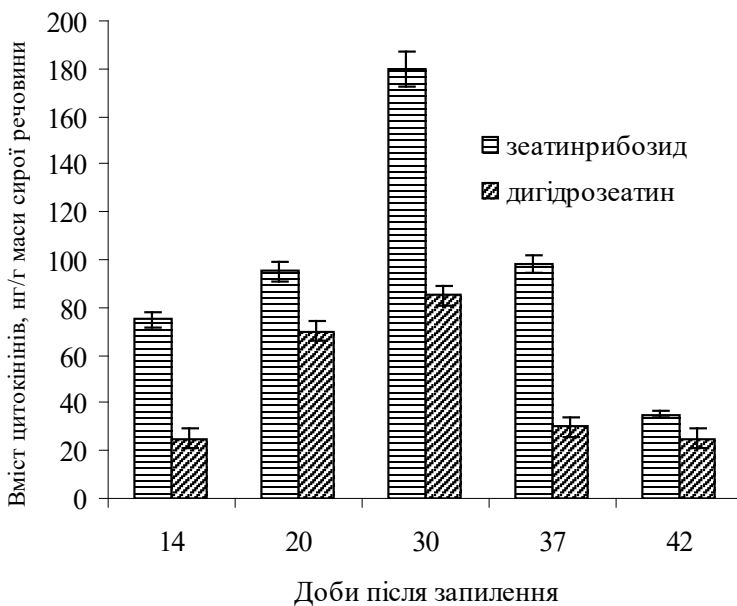


Рис. 12. Вміст цитокінінів у зародках насіння *Acer saccharinum* на різних стадіях розвитку

розмірів. Дозрівання насіння супроводжувалося зниженням вмісту зеатинрибозиду та дигідрозеатину. Найбільший вміст ендогенної АБК припав на 20-й день після запилення, а в дозрілого насіння він був мінімальним. Отже, рекальцитратне насіння клена сріблястого, яке здатне прорости одразу ж після дозрівання, характеризувалося невисоким вмістом цитокінінів на фоні мінімального вмісту АБК (Musatenko et al., 1995).

Розрахунки співвідношення вмісту вільних активних форм цитокінінів і вмісту АБК в насінні досліджених деревних видів показало, що воно було майже однаковим ( $\sim 0,5$ ) у зародкових органах насіння *Acer hippocastanum* і *A. saccharinum*, яке було здатне прорости після дозрівання (табл. 4). В дозрілому

Таблиця 4. Співвідношення вмісту вільних форм фітогормонів у зародкових органах насіння деревних видів рослин

Насіння			
<i>Acer hippocastanum</i> після дозрівання	<i>A. tataricum</i> після дозрівання	<i>A. tataricum</i> після стратифікації	<i>A. saccharinum</i> після дозрівання
Z/АБК	Z/АБК	Z/АБК	DNZ/АБК
0,55	0,04	1,46	0,57

насінні *A. tataricum* у стані глибокого спокою цей показник був на порядок нижчий, а після холодної стратифікації зростав у понад 30 разів.

Таким чином, насіння досліджених видів деревних культур з різною глибиною спокою характеризується високими рівнями цитокинінів на початкових етапах розвитку і тенденцією до зниження їхнього вмісту по мірі формування й дозрівання. Можна стверджувати, що інтенсивний ріст зародкових органів

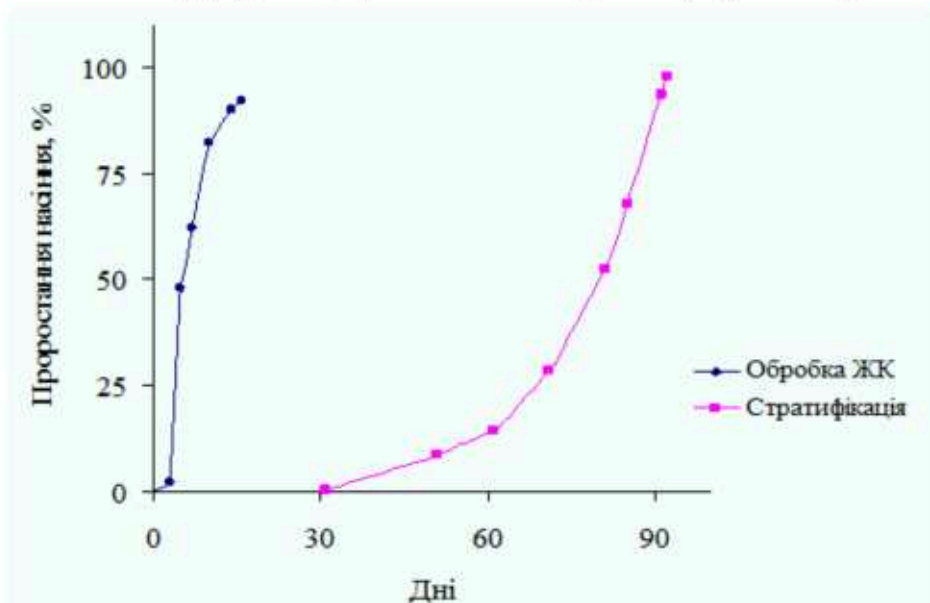


Рис. 13. Проростання зародків *Acer tataricum*, що покоїться, в темряві при +22 °С після попередньої обробки жасмоновою кислотою (500 мг/л) і після холодної стратифікації впродовж різного часу

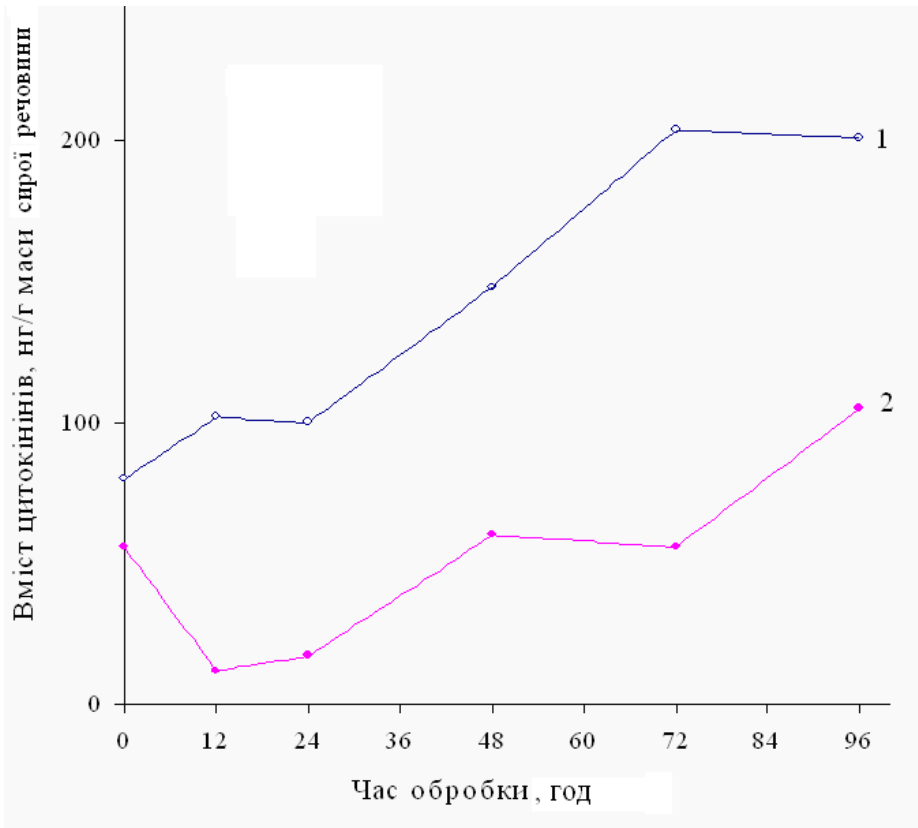


Рис. 14. Вміст цитокінінів у зародках насіння *Acer tataricum* після обробки жасмоновою кислотою (500 мг/л): 1 – зеатинрибозид, 2 – зеатин

на початку ембріогенезу залежить від високих концентрацій зеатинових гормонів і регулюється ними. Зіставлення отриманих даних з результатами дослідження вмісту АБК показало, що глибина спокою насіння, вочевидь, визначається не стільки абсолютними кількостями цитокінінів, скільки співвідношенням вмісту цитокініні/АБК.

Проростання дозрілого насіння *A. tataricum* без стратифікації можна досягти дводобовою обробкою жасмоновою кислотою у концентрації 500 мг/л (рис. 13).

Жасмонова кислота (ЖК) часто розглядається однозначно як інгібітор проростання насіння (Wasternack, Hause, 2013), хоча



це твердження справедливе лише для насіння з вимушеним спокоєм. Обробка насіння з глибоким фізіологічним спокоєм розчином ЖК призводила до переривання спокою і проростання насіння (Далецкая, Зембднер, 1989; Verestetsky et al., 1991; Yildiz et al., 2008). Встановлено, що дія цього регулятора росту залежить від типу запасних речовин (Далецкая, Зембднер, 1989; Babenko et al., 1997). У клена татарського основною запасною речовиною є ліпіди, обробка жасмонатом викликала їхній розпад, вихід з глибокого покою й ініціацію проростання (Babenko et al., 2015).

Для з'ясування механізму дії цього регулятора росту було досліджено його вплив на вміст ендогенних цитокінінів (рис. 14).

Показано, що впродовж 96 год після обробки вміст зеатину і зеатинрибозиду у насінні поступово зростав і досягав величин, які значно перевищували показники, отримані при вивченні цитокінінів насіння *A. tataricum* після стратифікації (рис. 14). Отже, холодна стратифікація і обробка жасмоновою кислотою по-різному впливають на статус цитокінінів у насінні клена татарського. Враховуючи, що ЖК активує гени, які кодують рецептори АБК (Wasternack, Hause, 2013), можна припустити, що її роль в ініціації проростання полягає в порушенні балансу ендогенного вмісту й сигналіngu цитокінінів й АБК.

Висока швидкість росту на початкових етапах проростання рослин пов'язана з інтенсивним поділом і розтягуванням клітин. У кукурудзи встановлена кореляція між мітотичним індексом і рівнями цитокінінів (Москалева, 1990), пік вмісту активних форм цитокінінів у 7-добових проростків цієї рослини збігався з максимумом меристематичної активності та видовження (Vugoubalová et al., 2009). Подібні результати було отримано на 6-добових проростках гороху (Stirk et al., 2008). У 7-денних проростках квасолі домінували нуклеотидні неактивні форми цитокінінів (Hammerton et al., 1996). Збільшення

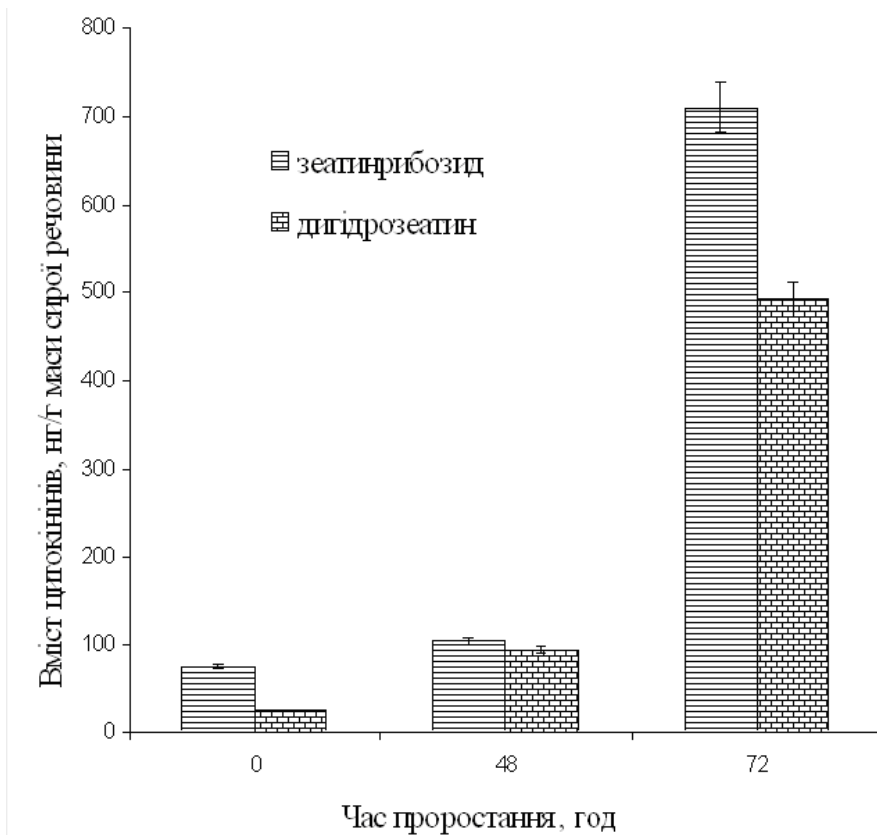


Рис. 15. Вміст цитокінінів у насінні *Acer saccharinum* при проростанні

вмісту цитокінінів спостерігалось в гіпокотилі проростків квасолі при переході до росту розтягуванням, а в корнях під час інтенсивного поділу клітин рівень дигідрозеатину був невисоким (Веденичева, 1990). Після декапітації баланс цитокінінів у 7-денних проростках гороху значно змінювався (Котова и др., 2004).

Проростання насіння й формування проростків дводольних (*A. saccharinum*) та однодольних (*Z. mays*) супроводжується зростанням вмісту активних форм цитокінінів (рис. 15, табл. 5), що, очевидно, пов'язано з участю цих гормонів у регуляції

Таблиця 5. Вміст цитокинінів в органах проростків *Zea mays* (сорт Дніпровська 247) при проростанні, нг/г сирової речовини

Орган проростків	Вік проростків, год	Цитокинін		
		Z	ZR	ZOG
Брунька	48	172±8	105±5	0
	72	289±13	173±8	77±3
	96	344±15	195±9	112±6
Мезокотиль	48	76±3	35±2	29±1
	72	82±4	44±2	69±3
	96	72±3	37±2	51±2
Корінь	48	258±12	196±9	54±2
	72	314±15	252±12	112±6
	96	338±15	263±12	92±4

процесів активного росту зародкових органів внаслідок поділу та розтягування клітин.

У насінні *A. saccharinum* біосинтез і метаболізм цитокинінів розпочинається в перші 8 год проростання. Різке зростання їхнього вмісту на 72-й год проростання свідчить про якісні зміни у системі сигналіngu цих гормонів саме в цей період (рис. 15).

У проростків *Z. mays* формування зон росту і збільшення кількості клітин, які перебували у стані поділу і розтягування, прискорення росту органів супроводжувалося збільшенням рівня активних форм цитокинінів і появою зв'язаної форми – зеатин-О-глюкозиду. Можна припустити, що надлишок цитокинінів, який утворюється при активізації біосинтезу гормонів *de novo*, запасався у формі О-глюкозиду, здатного легко розщеплюватися до вільного стану в разі потреби (Мок, Мок, 2001), створюючи таким чином мобільний резерв. Локальний синтез цитокинінів в апексах пагону та кореня підтверджує функціонування цих гормонів як ендокринних сигналів вже на початкових стадіях розвитку нового організму.

Таким чином, цитокініни беруть участь у формуванні та функціонуванні як вегетативних, так і генеративних органів рослин на всіх стадіях онтогенезу. Важливим моментом при цьому є здатність цих гормонів по-різному спрямовувати розвиток різних тканин (верхівкових меристем пагону й кореню) та здійснювати обмін інформацією між підземною і надземною частинами рослини за допомогою довгодистанційного транспорту різних форм цитокінінів (базипетальний транспорт ізопентеніладеніну та акропетальний – зеатинрибозиду).

## ГЛАВА 6

### УЧАСТЬ ЦИТОКІНІНІВ У ФОРМУВАННІ АДАПТАЦІЇ РОСЛИН ДО ДІЇ СТРЕСОВИХ ЧИННИКІВ

Рослини впродовж усього життя піддаються дії різноманітних впливів оточуючого середовища. При достатньо високій інтенсивності й тривалості такої дії у рослинному організмі виникає ряд специфічних і неспецифічних ознак, які інтегруються в єдиний процес, що називається стресовою реакцією або просто стресом (Косаківська, 2003). Еволюційно у рослин сформувалася складна диференційована система сигналіngu, спрямована на сприйняття зовнішніх чинників і подальшу пристосувальну до них модифікацію росту. У цій системі ключову роль відіграють фітогормони. Флуктуації стресозалежних гормонів відносяться до найдинамічніших змін, що відбуваються у рослинному організмі при стресах, завдяки ним скоординовано регулюються адаптаційні перебудови. Сучасні дослідження переконливо демонструють тісну взаємодію між різними фітогормонами у формуванні стійкості рослин до стресів (Kohli et al., 2013). Тим не менш, кожен з них, вочевидь, займає певне місце у каскадній системі трансдукції зовнішніх сигналів і виконує строго специфічні функції (Eyidogan et al., 2012). Найбільш дослідженим «стресовим» гормоном є АБК, підвищення вмісту якого було зафіксовано практично в усіх випадках, коли рослини піддавали дії тих чи інших стресових чинників. Антагоністом АБК у регуляції більшості процесів виступає зеатин або інші цитокініни (Кулаєва, Прокопцева, 2004). Абіотичні стреси (гіпертермія, посуха, охолодження, засолення) спричиняють зміни у вмісті різних форм цитокінінів (Wahid et al., 2007; Javid et al., 2011), підвищити стійкість рослин до стресів можна за допомогою обробки екзогенними цитокінінами (Liu, Huang, 2002; Мусієнко та ін., 2014) або генними модифікаціями, що призводять до змін у біосинтезі

та метаболізмі цитокинінів (Peleg et al., 2011; Macková et al., 2013; Reguera et al., 2013). Увага до вивчення ролі цитокинінів у виникненні пристосувальних реакцій організму на дію несприятливих факторів довікля зростає (Титов, Таланова, 2009; Argueso et al., 2009; Ha et al., 2012). Проте залишається ще багато не з'ясованих питань щодо функцій окремих форм цитокинінів за дії різноманітних стресових чинників, значення кон'югації цитокинінів в адаптаційний період, локалізації цитокинінів в органах рослин та їхнє співвідношення, участі цитокинінів у формуванні стійкості до стресів тощо.

### **Високотемпературний стрес**

Найбільшу кількість даних щодо динаміки цитокинінів в умовах негативних факторів було отримано при дослідженні впливу на рослини підвищеної температури. Високотемпературний стрес, як правило, викликає зменшення рівнів ендогенних цитокинінів (Dobrá et al., 2015). Так, зниження цитокинінової активності було зафіксовано в проростках пшениці (Косогова, 1986) і вівса (Чуйкова, Лихолат, 1988), якщо насіння перед пророщуванням піддавали дії тривалого теплового шоку. В проростків ячменю тепловий шок викликав суттєве зниження вмісту зеатину й зеатинрибозиду (Ефремов и др., 1992). У проростках пшениці при підвищенні температури знижувалася концентрація сумарної кількості цитокинінів й окремих гормонів (Farkhutdinov et al., 1997) та спостерігалось накопичення кон'югованих цитокинінів (Mitrichenko et al., 1996) з подальшим відновленням до вихідного рівня при нормалізації температурного режиму (Веселов и др., 1998; Veselov et al., 1998). Аналіз розподілу цитокинінів між пагоном і коренем при дії гіпертермії на рослини пшениці показав, що нагрівання суттєво не позначається на балансі синтезу й розкладанні гормону в проростках у цілому, а, можливо, лише відбувалося інгібування його відтоку від коренів (Фархутдинов и др., 2003). Цікаво, що тепловий шок підсилює

**Таблиця 6. Вміст фітогормонів у проростках *Zea mays* за дії високотемпературного стресу, нг/г маси сирової речовини**

Варіант	Фітогормон					
	ZR		ZOG		АБК	
	Надземна частина	Корені	Надземна частина	Корені	Надземна частина	Корені
Гібрид Титан 220 СВ						
Контроль	270 ± 11	356 ± 8	114 ± 3	184 ± 9	210 ± 10	160 ± 9
Дослід	126 ± 5	216 ± 10	36 ± 2	24 ± 1	280 ± 15	270 ± 9
Гібрид Нептун СВ						
Контроль	сліди	40 ± 2	12 ± 0,5	88 ± 2	30 ± 1	20 ± 1
Дослід	сліди	21 ± 1	72 ± 3	216 ± 4	114 ± 9	100 ± 4

прояв типових реакцій на екзогенні цитокиніни (позеленіння листків та затримку старіння), що свідчить про можливий вплив температурного фактора на систему метаболізму цитокинінів та/або систему рецепції цих гормонів (Burhanova et al., 2001). Дані, які підтверджують, що спрямованість метаболізму цитокинінів при тепловому шоці зумовлена генетично, були отримані на проростках тютюну: якщо природна реакція рослин на тепловий стрес полягала в активації процесів, спрямованих на зменшення концентрації цитокинінів, то у трансгенних рослин вона була протилежною (Веселов и др., 1995).

Гібриди кукурудзи з контрастною жаростійкістю (Титан 220 СВ – стійкий та Нептун СВ – слабостійкий до впливу високих температур) відрізнялися за характером накопичення та розподілу цитокинінів як в нормі, так і при стресі (табл. 6). За нормальних умов проростки гібриду Титан 220 СВ відрізнялися значно більшим вмістом цитокинінів відносно гібриду Нептун СВ. За дії високотемпературного стресу (+42 °С) досить швидко змінюється вміст цитокинінів. У стійкішого гібриду Титан 220 СВ відбувалося зниження вмісту як активної форми цитокинінів (зеатинрибозиду), так і кон'югованої (зеатин-О-глюкозиду). У менш стійкого, навпаки, значно підвищувався вміст кон'югату.

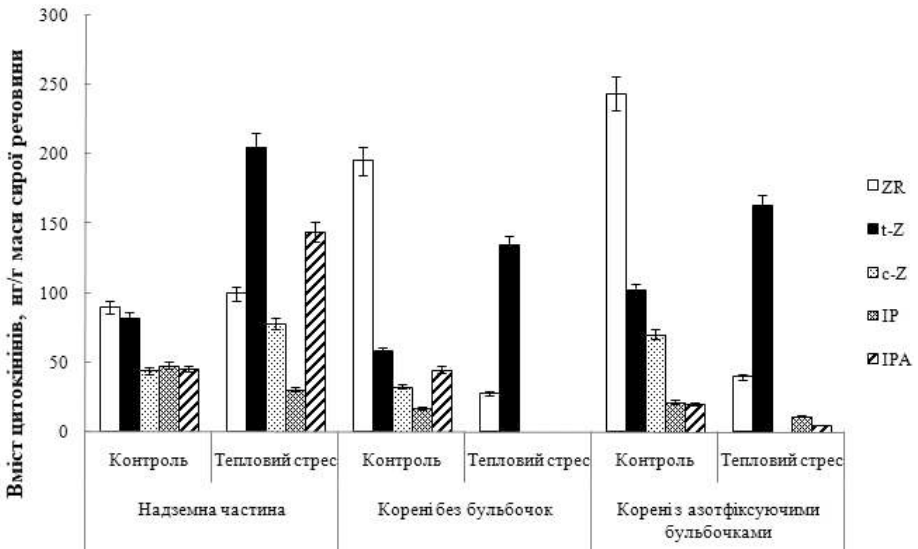


Рис. 16. Вплив гіпертермії на вміст цитокінінів у 35-добових рослин *Glycine max* сорту КиВін, іноккульованих *Bradyrhizobium japonicum* 6346

Останній факт можна розглядати як інактивіацію гормону, що свічить про різний характер метаболізму цитокінінів у гібридів кукурудзи з різною стійкістю.

Можна припустити, що більш високий рівень фітогормонів у контрольних рослин гібриду Титан 220 СВ відіграє захисну роль і пов'язаний з підвищенням його стійкості до дії гіпертермії, а спосіб перетворень фітогормонів у гібриду Титан 220 СВ є більш адаптаційно доцільним, ніж у гібриду Нептун СВ .

У рослин *Glycine max* (L.) Merr. посухостійкого сорту КиВін, іноккульованих бульбочковими бактеріями *Bradyrhizobium japonicum* 6436, у фазу активної азотфіксації (35 діб) після короткотривалого теплового стресу пул цитокінінів у надземній частині суттєво збільшився переважно за рахунок *транс*-зеатину та ізопентеніладенозину (рис. 16). Натомість у коренях пул цитокінінів зменшився, був відсутній *цис*-зеатин, вміст зеатинрибозиду знизився в 6 разів на тлі зростання кількості *транс*-зеатину.



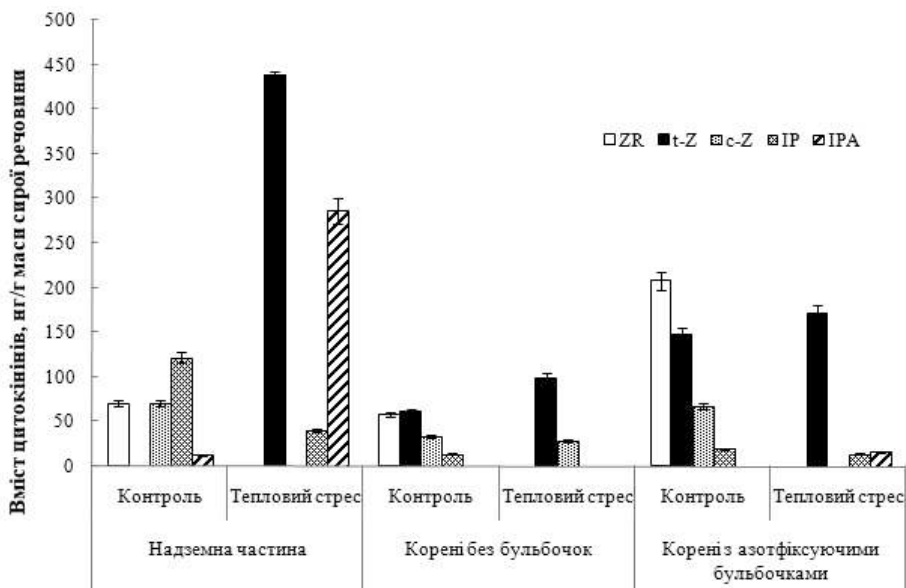


Рис. 17. Вплив гіпертермії на вміст цитокинінів у 35-добових рослин *Glycine max* сорту Подільська 416, інокульованих *Bradyrhizobium japonicum* 634б

У коренях, які не мали бульбочок, також зменшувався вміст зеатинрибозиду, а кількість *транс*-зеатину зростала, проте були відсутні *цис*-зеатин, ізопентеніладенін й ізопентеніладенозин. Порівняння вмісту та спектру цитокинінів у коренях з бульбочками і без них виявило участь азотфіксуючих мікроорганізмів у продукуванні ізопентеніладеніну й ізопентеніладенозину за умов гіпертермії у рослині-господарі.

У рослин *Glycine max* холодостійкого сорту Подільська 416 після короткотривалого теплового стресу пул цитокинінів у надземній частині збільшився в 2,7 рази переважно за рахунок *транс*-зеатину та ізопентеніладенозину, тоді як у коренях з бульбочками спостерігалось зменшення пулу цитокинінів у 2 рази. У коренях, які не мали бульбочок, також не було знайдено зеатинрибозиду, кількість *транс*-зеатину зростала, а *цис*-зеатину, навпаки, дещо зменшувалась, були відсутні ізопентеніладенін й ізопентеніладенозин (рис. 17). Як і в разі

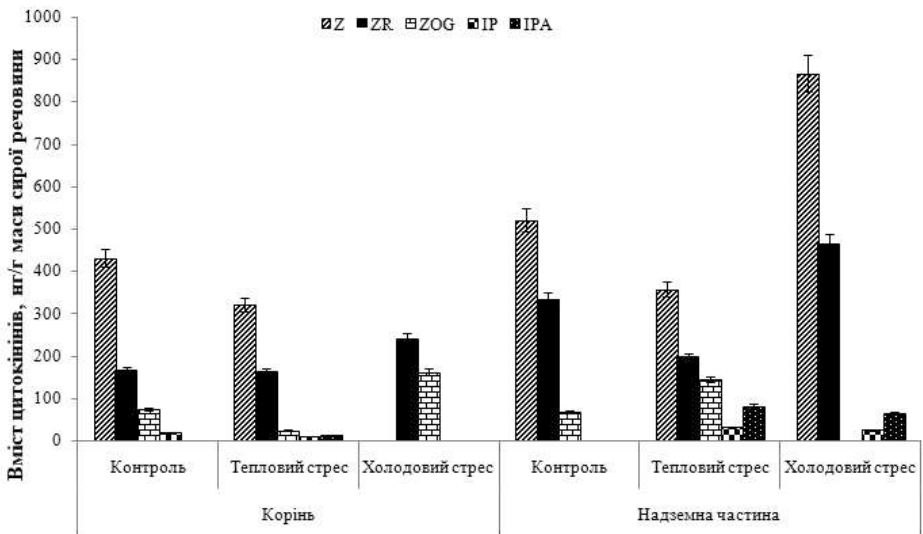


Рис. 18. Вплив короткотривалих температурних стресів на вміст цитокінінів у 7-добових проростках *Triticum aestivum* сорту Ятрань 60

дослідів із сортом КиВін, продемонстровано позитивний вплив азотфіксуючих бульбочок на кореневій системі сої на вміст фітогормонів цитокінінової природи у рослини-господаря. Отже, після короткотривалого теплового стресу в обох сортів відбулося збільшення вмісту цитокінінів у коренях і зменшення у надземній частині. Специфічні зміни у складі і вмісті цитокінінів залежали від сорту, органу рослини і наявності бульбочок із азотфіксуючими мікроорганізмами (Косаківська та ін., 2016).

Антистресову дію при гіпертермії мають препарати цитокінінової природи (Моргун та ін., 2002). Так, обробка картоліном-2 сприяла зниженню пошкоджуючої дії теплового шоку на проростки ячменю, при цьому спостерігалось порушення співвідношення ендогенних цитокінінів і АБК (Ефремов и др., 1992). Додавання картолін-2 підвищувало також стійкість проростків пшениці до теплового шоку (Сарват и др., 1993). Обприскування БАП сприяло збереженню й більш

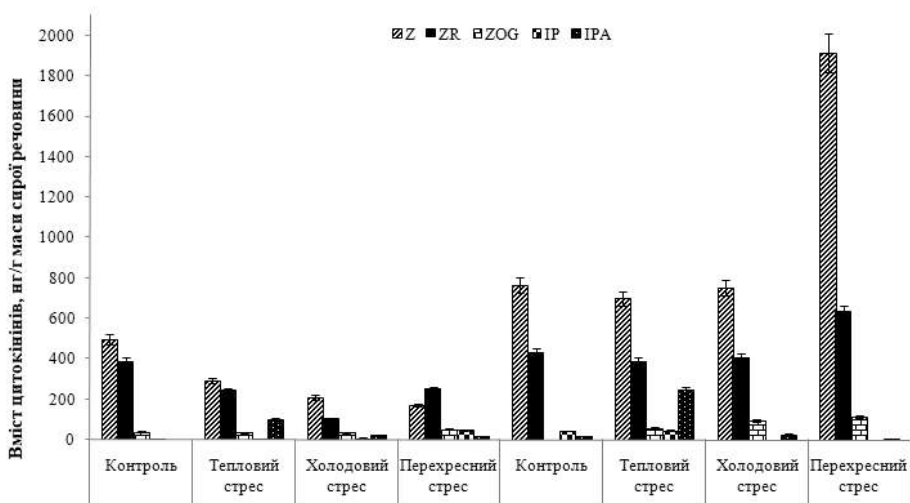


Рис. 19. Вплив короткотривалих температурних стресів на вміст цитокинінів у 14-добових проростках *Triticum aestivum* сорту Ятрань 60

швидкому відновленню фотосинтетичного апарату листків пшениці при гіпертермії (Мусієнко та ін., 2014). Механізм такої дії цитокинінів поки що не відомий. Нещодавно встановлено, що обробка зеатинрибозидом не впливала на активність антиоксидантних ферментів мітлиці повзучої при тепловому стресі (Wang et al., 2012).

### Холодовий стрес

Температурний стрес протилежного напрямку дії – охолодження призводив до зниження вмісту цитокинінів у рослин *Euphorbia pulcherrima* (Hanny, Dorfling, 1991). У пагонах проростків пшениці також спостерігалось дуже швидке зменшення вмісту цитокинінів як при повільному (Kudoyarova et al., 1998), так і швидкому (Веселов и др., 2002) охолодженні кореневої системи. В останньому випадку автори дійшли висновку, що гормони не беруть участі в регуляції гальмування росту листка, оскільки воно відбувалося миттєво

після зниження температури. Обробка рослин огірка та пшениці екзогенним цитокініном сприяла підвищенню стійкості рослин до охолодження, при цьому застосування інгібіторів дозволило зробити висновок, що дія цитокініну пов'язана із синтезом білка (Критенко, Титов, 1990). Дослідження останніх років показали, що холодний стрес швидко прискорював експресію генів-регуляторів відповіді на цитокініни типу А, при цьому рецептори АНР2, 3 і 5 також були включені в цей процес (Jeon et al., 2010). Оверекспресія цих генів підвищувала стійкість проростків арабідопсису до вимерзання (Shi et al., 2012), а рослини з репресованими генами сигналіngu цитокінінів демонстрували гіперчутливість до АБК на холоді, що також підвищувало їхню холодостійкість (Jeon, Kim, 2013).

Після короткотривалого холодного стресу в коренях 7-добових проростків *Triticum aestivum* L. жаростійкого сорту Ятрань 60 сумарний вміст цитокінінів зменшувався, зеатин, ізопентеніладенін й ізопентеніладенозин не були виявлені, водночас спостерігалось збільшення вмісту зеатинрибозиду й зеатин-О-глюкозиду (рис. 18). Після короткотривалого теплового стресу склад ендогенних цитокінінів у коренях зберігався, проте зменшувався вміст окремих ізоформ, а саме кількість зеатинрибозиду і зеатин-О-глюкозиду, з'являвся ізопентеніладенін. Виявлені зміни у вмісті й складі цитокінінів після дії температурних стресів були спрямовані протилежно по відношенню до змін у накопиченні АБК (Косаківська та ін., 2014) й опосередковано вказують на антагонізм між цими фітогормонами за стресорних температурних впливів. У 14-добових проростків у порівнянні з 7-добовими після теплового стресу вміст цитокінінів зетинового типу зменшувався вдвічі в коренях, тоді як у надземній частині практично не змінювався (рис. 19). Водночас в коренях і надземній частині накопичувались значні кількості ізопентеніладеніну. Після холодного стресу кількість цитокінінів зеатинового типу

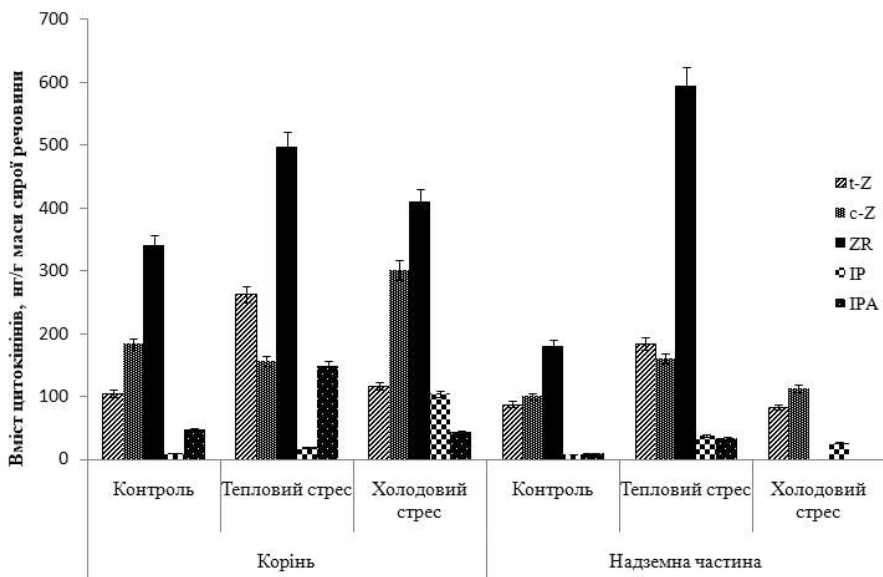


Рис. 20. Вплив короткотривалих температурних стресів на вміст цитокінінів у 7-добових проростках *Triticum aestivum* сорту Володарка

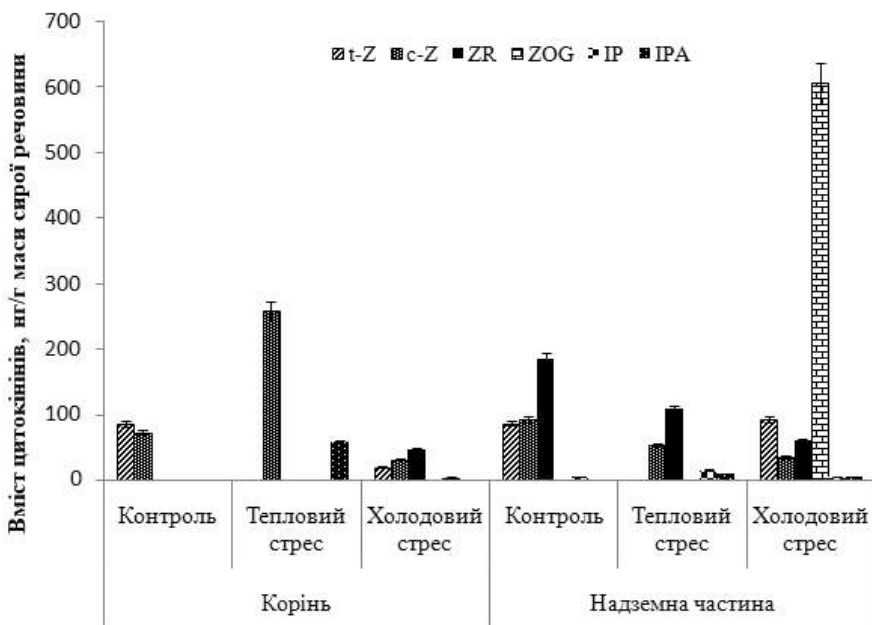


Рис. 21. Вплив короткотривалих температурних стресів на вміст цитокінінів у 14-добових проростках *Triticum aestivum* сорту Володарка

в коренях зменшилась утричі, а в надземній частині зроста. Найбільші зміни вмісту цитокінінів були зафіксовані після комбінованого стресу (холодовий+тепловий). В надземній частині спостерігалось значне підвищення кількості зеатину, зеатинрибзиду й зеатин-О-глюкозиду і зменшення вмісту цитокінінів ізопентенільного типу, тоді як в коренях, навпаки, кількість цитокінінів зеатинового типу зменшувалась, а рівень кількості ізопентеніладеніну й ізопентеніладенозину суттєво зростав (Косаківська та ін., 2015).

Після короткотривалого холодого стресу у 7-добових проростків морозостійкого сорту озимої пшениці сорту Володарка сумарний вміст цитокінінів у коренях зростав у 1, 5 рази, найбільш виразні зміни зафіксовані для *цис*-зеатину й ізопентеніладеніну. Після короткотривалого теплового стресу вміст ендогенних цитокінінів у коренях зростав, при цьому найбільше в зеатинрибозиду, *транс*-зеатину й ізопентеніладенозину (рис. 20). У надземній частині після холодого стресу спостерігалось зменшення вмісту цитокінінів, при цьому були відсутні зеатинрибозид й ізопентеніладенозин. Після теплового стресу відбулось зростання сумарного вмісту цитокінінів, особливо збільшувався рівень зеатинрибозиду. У коренях 14-добових проростків у порівнянні з 7-добовими після теплового стресу кількість ендогенних цитокінінів у коренях зростала вдвічі за рахунок суттєвого збільшення рівня *цис*-зеатину і появи ізопентеніладенозину, ізопентеніладеніну й ізопентеніладенозину (рис. 20).

Натомість у надземній частині сумарний вміст цитокінінів зменшувався майже вдвічі. Після холодого стресу в коренях сумарний вміст цитокінінів зменшувався (рис. 21), проте були присутні всі, за виключенням ізопентеніладенозину, ізоформи гормону. У надземній частині, як і після теплового стресу, спостерігалось зменшення вмісту цитокінінів, при цьому на

відміну від коренів був присутній *транс*-зеатин (Kosakivska et al., 2015).

Отже, короткотривалі температурні стреси викликали специфічні зміни в характері накопичення та спектрі ізоформ ЦК у проростках озимої пшениці, котрі залежали від віку та органу проростку, сорту, а також виду стресу.

### **Водний дефіцит**

Цитокініни беруть участь у регуляції посухостійкості рослин. Зниження рівня ендогенних цитокінінів спостерігалось при висушуванні коріння проростків рису (Vano et al., 1993). До такого ж наслідку приводила дія осмотичного шоку на проростки пшениці (Веселов и др., 2002). Висушування коріння викликало зниження рівня зеатину і його похідних у ксилемному соці і листках томатів (Kudoyarova et al., 2007) і кукурудзи (Alvarez et al., 2008). У досліджах багатьох авторів було показано, що обробка рослин цитокінінами сприяє пом'якшуванню впливу посухи. Так, у рослин люцерни після обробки полістимуліном кінетином та БАП підвищувалася інтенсивність фотосинтезу за умов недостатнього водозабезпечення (Михалків та ін., 2002). Достресова обробка синтетичними аналогами цитокінінів прискорювала ростові процеси в надземній та підземній частинах рослин пшениці у відновний період після посухи (Жук та ін., 2001). У квасолі обробка БАП затримувала старіння, викликане водним дефіцитом, причому екзогенний цитокінін сприяв більш швидкому відновленню рівня ендогенних гормонів (Rulkova, Pospíšilová, 2001). Аналогічні дані отримано на рослинах ячменю (Творус и др., 1987) і картоплі (Григорюк та ін., 2001). Проте існують повідомлення, що вплив екзогенного бензиладеніну на рослини в умовах водного дефіциту був видоспецифічним: у квасолі обробка сприяла покращенню фотосинтезу і підвищувала здатність рослин до подолання стресу, у буряка ефект був незначним, а

в кукурудзи негативні наслідки стресу навіть підсилювались за дії цитокініну (Pospíšilová, Vatkova, 2004). Механізм участі цитокінінів у регуляції водного режиму рослин, ймовірно, пов'язаний з їхньою участю в процесі транспірації. Виявлена здатність екзогенних цитокінінів впливати на швидкість потоку води через коріння (Лялин, Лукьянова, 1993). Показано, що цитокінін є антагоністом АБК-індукованого закриття продихів (Incoll, Jewer, 1987). Додавання БАП у розчин для вирощування експлантів картоплі та тютюну стимулювало відкриття продихів та транспірацію (Pospíšilová et al., 1993). У цитокінін-дефіцитних рослин за умов водного дефіциту не спостерігалось зменшення ні продихових щілин, ні їхньої щільності (Ha et al., 2012), а у рослин з гіперсинтезом цитокінінів покращувалася провідність продихів, транспірація та ефективність фотосинтезу за дії посухи (Qin et al., 2011). За останніми даними, цитокініни покращують не тільки водний режим, але й асиміляцію азоту і загальний метаболізм рослин при водному дефіциті (Reguera et al., 2013).

Відповідь рослин *Phaseolus vulgaris* на водний дефіцит варіювала в залежності від стадії їхнього розвитку (Веденичова, Мусатенко, 2006). Якщо водний дефіцит створювали на стадії максимальної мітотичної активності клітин первинних листків, відбувалося суттєве гальмування росту листових пластинок, збільшувалася товщина листків і щільність продихів. У листках, які піддавали дії водного дефіциту, вміст зеатину зменшувався більш, ніж у 6 разів, зеатинрибозиду – у 2,2 рази, а зеатин-О-глюкозиду – в 1,3 рази (табл. 7). Після двох діб водного дефіциту полив рослин відновлювали, на 17-у добу від початку проростання у зрілих листках рослин, які не зазнали посухи, рівень зеатину знизився у 4,5 рази, зеатинрибозиду – у 7,5 разів, зеатин-О-глюкозиду – у 3 рази. У рослин після посухи вміст зеатину і зеатинрибозиду був ще нижчим (табл. 7).



**Таблиця 7. Вміст цитокінінів у листках *Phaseolus vulgaris* на стадії максимальної мітотичної активності клітин за умов водного дефіциту, нг/г маси сухої речовини**

Гормон	Контроль початковий	Після 2-х діб водного дефіциту		По завершенні росту листка	
		контроль	дослід	контроль	дослід
Z	2665 ± 64	4688 ± 112	740 ± 23	1057 ± 34	786 ± 29
ZR	2225 ± 47	4297 ± 109	2006 ± 83	566 ± 23	357 ± 12
ZOG	2813 ± 75	4828 ± 158	3704 ± 127	1623 ± 59	1643 ± 59

**Таблиця 8. Вміст фітогормонів у первинних листках *Phaseolus vulgaris* за умов посухи, нг/г маси сирої речовини**

Стадія росту листка	Варіант дослід	Фітогормон			
		Z	ZR	ZOG	АБК
Меристематична	контроль	600 ± 11	555 ± 8	618 ± 11	120 ± 4
	посуха	120 ± 4	325 ± 6	600 ± 11	207 ± 8
Розтягування клітин	контроль	52 ± 3	270 ± 11	240 ± 6	132 ± 12
	посуха	Сліди	30 ± 4	132 ± 5	280 ± 13
Завершення росту	контроль	23 ± 4	Сліди	110 ± 6	125 ± 6
	посуха	Сліди	Сліди	420 ± 10	158 ± 8

Порівнюючи вміст цитокінінів за умов посухи на різних стадіях розвитку листка, можна констатувати, що найбільш чутливою до стресу гормональна система листків квасолі була на стадії росту за рахунок розтягування клітин, про що свідчить максимальне зниження вмісту цитокінінів і найбільше зростання вмісту АБК відносно контролю (табл. 8). У період найбільш активного меристематичного росту рівень цитокінінів й АБК знижувався менш суттєво і залишався доволі значним, особливо це стосується зеатин-О-глюкозиду. Можна припустити, що в цей найбільш важливий для формування архітекtonіки рослини період за дії негативного чинника (посухи) спрацьовує захисний механізм, який запобігає інтенсивному розкладанню молекул цитокінінів, частина з них запасається у вигляді кон'югатів. Відповідно, і зростання вмісту інгібітора (АБК) на цій стадії було незначним.

Отже, умови водного дефіциту спричиняють диференційований вплив на рівень вільних і зв'язаних цитокінінів у первинних листках квасолі, який зберігається впродовж усього періоду розвитку. Загальною тенденцією є зменшення сумарного вмісту цитокінінів в умовах посухи на стадіях росту поділом і розтягуванням клітин. Припускається, що зміни концентрації цитокінінів, які збалансовані змінами рівнів АБК у протилежному напрямку, безпосередньо впливають на ростові показники листків.

Останнім часом обговорюються способи підвищення посухостійкості рослин шляхом модифікації біосинтезу або метаболізму цитокінінів. Толерантність до дефіциту вологи була характерною для трансгенних рослин з виключеними рецепторами цитокінінів (Tran et al., 2010), для мутантів з гіперсинтезом цитокінінів (Merewitz et al., 2012; Kurpu et al., 2013). Конститутивне зниження рівня цитокінінів за рахунок оверекспресії генів *CKX* або інактивації генів *IPT* призводило до формування рослин з підвищеною посухостійкістю (Werner et al., 2010; Nishiyama et al., 2011; Macková et al., 2013). Разом з тим, стимуляція експресії генів *IPT* специфічним промотором *SARK*, що регулює посухостійкість і старіння, та підвищення синтезу цитокінінів також сприяли зростанню толерантності до водного дефіциту рослин тютюну (Rivero et al., 2007), арахісу (Qin et al., 2011) та рису (Peleg et al., 2011). Аналогічний результат спричиняє репресування генів, що кодують білки, задіяні у рецепції цитокінінів в арабідопсису (Tran et al., 2007). Припускалося, що механізм дії цитокінінів на посухостійкість пов'язаний зі зменшенням стрес-індукованого інгібування фотосинтетичної активності й стабілізацією фотосинтезу (Rivero et al., 2009), що покращує постачання енергії. Обговорювалася також здатність екзогенних цитокінінів підтримувати прорости у відкритому стані, протидіючи їхньому закриванню під впливом АБК (Pospíšilová et al., 2000; Веселова

и др., 2006;). Проте остаточною роллю цитокінінів у формуванні реакції рослин на посуху поки що не відома.

**Сольовий стрес.** Порушення водного режиму рослин унаслідок осмотичного стресу є складовою частиною і такого негативного чинника для росту рослин як засолення. Другою складовою є токсична дія надлишку іонів солей, особливо  $\text{Na}^+$ . Гальмування ростових процесів у молодих рослин або передчасне старіння у дорослих за дії солей, як правило, пов'язано зі зменшенням кількості цитокінінів (Hussein et al., 2006; Javid et al., 2011), проте рівень різних форм змінювався по-різному. Так, у коренях кукурудзи за дії  $\text{NaCl}$  вміст зеатинрибозиду значно підвищувався, а зеатину – знижувався (Калинина и др., 2001). У листках томата на фоні сумарного зниження концентрації цитокінінів найбільш суттєво знижувався рівень зеатинрибозиду (Albacete et al., 2008), у гороха зростав вміст ізопентенільних форм (Atanasova et al., 1996). В арабідопсису сольовий стрес призводив до репресії генів родини *IPT* і, відповідно, до зниження вмісту ендогенних гормонів (Nishiyama et al., 2011). При цьому рівень цитокінінів майже не змінювався при сольовому стресі у факультативного галофіта *Mesembryanthemum crystallinum* (Thomas et al., 1992). Сольовий та осмотичний стреси репресували гени, що кодуєть рецептори цитокінінів АНК2 і АНК4, тоді як ген *АНК3*, навпаки, активувався за їхньої дії (Kieber, Schaller, 2014). За іншими даними (Tran et al., 2007), роль позитивного регулятора сигналізу осмотичного стресу в арабідопсису виконує рецептор АНК1, принаймні оверекспресія гену *АНК1* призводить до підвищення солестійкості, а мутація *ahk1* – до зростання чутливості рослин до дії солей. Існує повідомлення про активацію генів *IPT* та репресію генів *СКХ* у проростків кукурудзи при осмотичному стресі, наслідком чого було підвищення вмісту ендогенних цитокінінів (Vyroubalová et al., 2009). Порушення системи цитокінінового сигналізу спричиняє зміни у постачанні

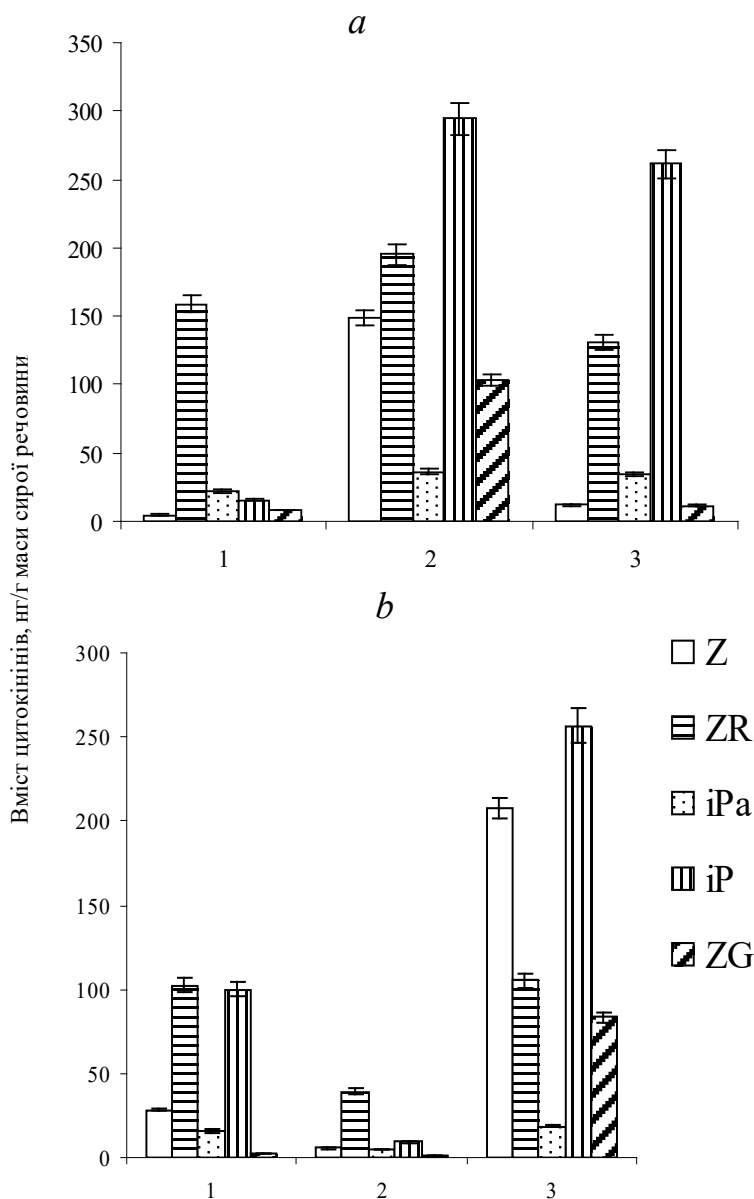


Рис. 22. Вміст цитокінінів у корнях (а) та листках (б) проростків *Phaseolus vulgaris* при засоленні: 1 – контроль, 2 – 50 мМ NaCl, 3 – 100 мМ NaCl

$\text{Na}^+$  при сольовому стресі: нечутливі до цитокінінів мутанти (*ahk*, *ahp* і *arr* типу В) накопичують менше іонів у листках, а гіперчутливі (*arr* типу А) – більше (Mason et al., 2010). Застосування екзогенних цитокінінів або оверекспресія генів *IPT* у коренях томатів призводили до підвищення активності ферментів, що каталізують синтез цукрів, і, відповідно, до зростання врожайності за дії сольового стресу (Albacete et al., 2014). Пагони томатів, привиті на коріння від мутантів з індукованими генами *IPT*, за умов засолення нормально росли і давали повноцінний врожай (Ghanem et al., 2011).

Порівняння реакції рослин гліко- та галофітного типу на гіперсалінізацію середовища становить інтерес для розкриття механізмів солестійкості. Рослини вирощували у водній культурі, сольовий стрес створювали одноразовим внесенням  $\text{NaCl}$  у поживне середовище. Засолення спричиняло зниження показників біомаси та лінійних розмірів 14-добових проростків гліофіту *Phaseolus vulgaris*, а також диференційований вплив на вміст цитокінінів (рис. 22). По-різному змінювалося співвідношення ендогенних цитокінінів у коренях і листках. За концентрації солі 50 мМ ростові показники рослин квасолі погіршувалися незначно, при цьому пул кореневих цитокінінів відносно контролю зростав, тоді як листових – зменшувався. При більш значному сольовому стресі (100 мМ), який відчутно позначався на рості рослин, істотніше змінювався вміст цитокінінів у листках порівняно із коренями. За дії 50 мМ  $\text{NaCl}$  рівень зеатинрибозиду й ізопентеніладеніну в коренях зростав, а в листках – зменшувався, а за дії 100 мМ  $\text{NaCl}$  – зміни вмісту цих цитокінінів у коренях були протилежні, тоді як в листках їхній рівень майже не змінювався. Оскільки ці форми гормону розглядаються як сигнальні молекули, за допомогою яких відбувається інформаційне сполучення між кореневою системою і надземною частиною рослини, вірогідно, саме флуктуації їхнього вмісту віддзеркалюють реакцію рослин

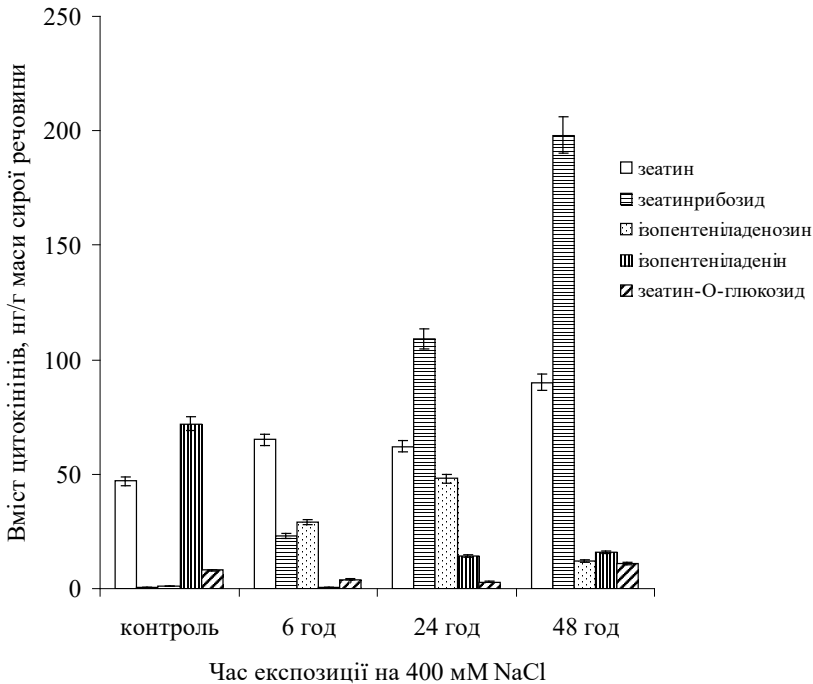


Рис. 23. Вміст цитокинінів у листках *Mesembryanthemum crystallinum* L. при засоленні

на засолення. Можливо, диференційована відповідь на різні концентрації солі свідчить про різний характер сигналу, що передається від коренів до листків.

Вирощування на середовищі з високою концентрацією NaCl (400 мМ) істотно не позначалося на ростових характеристиках галофіту *Mesembryanthemum crystallinum*, проте викликало суттєві перебудови у балансі цитокинінів. Засолення впродовж 6 год призводило до незначного (приблизно в 1,5 рази) підвищення вмісту зеатину. Різко, в десятки разів, знижувався рівень ізопентеніладенозину, а зеатинрибозиду й ізопентеніладеніну – так само різко підвищувався (рис. 23). Подальше витримування рослин на гіперсольовому розчині викликало поступове накопичення зеатинрибозиду,

ізопентеніладеніну й ізопентеніладенозину в тканинах листків. Вміст зеатин-О-глюкозиду був незначний в листках контрольних рослин, і за дії засолення він зменшувався в першу добу, а потім знов повертався на вихідний рівень.

Специфічною рисою *M. crystallinum* був низький вміст АБК у листках, а також незначні за абсолютною величиною, але суттєві порівняно з контролем флуктуації цього гормону за умов впливу NaCl, тоді як для глікофітів характерно більш значне підвищення рівня АБК у відповідь на стрес (Vedenicheva et al., 2011).

Отже, порівняльний аналіз впливу гіперсалінізації на гормональну систему рослин з контрастною солестійкістю показав, що в адаптації рослин як глікофітного, так і галофітного типу до засолення регуляторну функцію виконують конкретні форми цитокінінів, про що свідчить диференційована відповідь окремих речовин. Головною характерною рисою галофіту *M. crystallinum* було значне концентраційне переважання цитокінінів над АБК у контролі, яке зберігається і за стресових умов (Веденичева и др., 2010).

Як і у випадку з водним стресом, посилити толерантність рослин до сольового та осмотичного стресу можливо за допомогою мутації генів, відповідальних за передачу цитокінінових сигналів і біосинтез цитокінінів (Peleg et al., 2011; Ha et al., 2012; Wang et al., 2015; Zwack, Rashotte, 2015), а також обробкою регуляторами росту (Палладіна та ін., 2001) і фітогормонами (Chakrabarti, Mukherji, 2003; Javid et al., 2011). Раніше припускали, що головну роль у механізмі адаптації рослин до засолення може належати АБК, яка включається в реакцію організму на посуху, що виникає при цьому: гормон з транспіраційним потоком надходить в листки, де викликає закривання продихів, зменшуючи таким чином втрату вологи (Munns et al., 2006). Проте механізм регуляції адаптивних перетворень рослин при засоленні має складний характер і,

очевидно, в ньому задіяний увесь комплекс гормональних речовин. На жаль, даних про зміни гормонального балансу за впливу солей вкрай мало, і вони часто мають суперечливий характер (Shakirova et al., 2003; Fricke et al., 2004; Sairam, Aruna, 2004; Ахиярова и др., 2005; Javid et al., 2011;

Таким чином, за дії різноманітних негативних чинників, таких, як гіпер- та гіпотермія, посуха, засолення тощо загальною стратегією рослин є затримка росту й розвитку, що співпадає зі зменшенням пулу ендогенних цитокінінів в органах. Слід зазначити, що у випадках слабого чи дуже нетривалого стресу спостерігається підвищення вмісту цитокінінів (Navlova et al., 2008). Зменшення його за рахунок активації деградації цитокінінів чи інактивації біосинтезу, а також порушення системи цитокінінового сигналіngu підвищують стійкість до стресів. Очевидно, вміст цитокінінів підтримується у тканинах таким чином, щоб регулювати оптимальний баланс між негативним ефектом гормону на стійкість і позитивним ефектом на ріст і розвиток. Проте екзогенна обробка цитокінінами теж позитивно впливає на стрес-толерантність рослин, оскільки сприяє затримці старіння, підтримує фотосинтетичну активність, підсилює надходження в них поживних речовин. Остаточно механізм регуляторної дії цитокінінів при стресах не з'ясовано. Протиріччя в отриманих результатах свідчать про його складність і багатокомпонентність. Існуючі відомості дають багато підстав вважати маніпулювання рівнями цитокінінів та цитокініновими сигналами інструментом для управління стрес-толерантністю, а отже продуктивністю рослин за дії несприятливих факторів.

**Мікрогравітація.** Одним з основних факторів, що впливають на ріст і розвиток рослин під час космічного польоту, є зменшення сили земного тяжіння. Реакція рослин на дію цього чинника привертала увагу багатьох дослідників, проте



вивчення гравітропізму, механізму його виникнення і регуляції проводилося головним чином при змінах спрямованості вектору гравітації. Водночас, існує небагато робіт, в яких розглядається ріст і фізіологія рослин в умовах значного зменшення дії самого вектору (мікрогравітації). Фітогормони є ключовою ланкою у геотропічній теорії Холодного-Вента (Холодний, 1939). Сучасні погляди на сприйняття і передачу гравітаційних сигналів розглядають основними факторами цих процесів модифікації елементів цитоскелету й активацію йонних каналів, що регулюються потоками ауксинів і їхніми білками-переносниками (PIN) (Baldwin et al., 2013). Враховуючи тісні взаємозв'язки між сигналігом ауксинів і цитокінінів (Jones et al., 2010), а також відомості про регуляторну роль цитокінінів у реорганізації актинових мікрофіламентів (Блюм и др., 2012), можна прогнозувати, що у контролюванні геотропічної реакції беруть участь й інші компоненти гормонального комплексу, в тому числі й цитокініни.

Досліджували вплив мікрогравітації на ріст рослин і вміст ендогенних цитокінінів у надземній частині та коренях *Phaseolus vulgaris* L. сорту Білозерна. Умови мікрогравітації моделювали за допомогою горизонтального кліностату, який обертався в режимі 2 об/хв. Як відомо, при кліностатуванні об'єкт постійно дезорієнтується у полі земного тяжіння, в результаті чого утворюється один з наслідків невагомості – відсутність дії вектору гравітації, що орієнтує організм у просторі (Сытник и др., 1984). Кліностатування призводило до суттєвого зниження розмірів надземної частини рослин (на 54%) і незначного збільшення довжини коренів (на 9%) відносно контролю. При цьому біомаса рослин зменшувалася незначно – на 5% надземної частини та 14% коренів (Веденичева и др., 2002). Подібні морфологічні зміни спостерігалися також при кліностатуванні рослин сої (Hilaire et al., 1996) і конюшини (Gallegos et al., 1995). Було встановлено, що клітини коренів

**Таблиця 9. Вміст цитокинінів у проростках *Phaseolus vulgaris* в умовах кліноостатування, нг/г маси сирової речовини**

Цитокинін	Надземна частина		Корені	
	Контроль	Дослід	Контроль	Дослід
Z	257 ± 12	99 ± 4	325 ± 15	64 ± 3
ZR	235 ± 11	314 ± 14	358 ± 17	227 ± 11
ZOG	260 ± 13	337 ± 15	278 ± 10	280 ± 13

проростків квасолі за умов тривалого кліноостатування втрачали полярність, змінювалися їхній розмір і форма, зменшувався вміст крохмалю, ушкоджувалися статоцити (Aronne et al., 2003).

У контрольних умовах наших експериментів корені проростків характеризувалися високим (на 25% більше, ніж у надземній частині) рівнем цитокинінів (табл. 9). Кліноостатування призводило не тільки до змін балансу цитокинінів у проростків квасолі, але й до їхнього перерозподілу між кореневою і надземною частинами рослини (табл. 9). Вміст зеатину у надземній частині рослин квасолі після кліноостатування зменшувався більш, ніж удвічі, а зеатинрибозиду і зеатин-О-глюкозиду – збільшувався у середньому на 25%. У коренях суттєво падав рівень зеатину (майже у 5 разів) і дещо знижувалася кількість зеатинрибозиду (приблизно на 40%), вміст зеатин-О-глюкозиду не змінювався.

Розглядаючи у цілому реакцію гормональної системи рослин на умови, які утворюються при кліноостатуванні, можна відмітити зниження вмісту активних форм гормонів стимулюючої дії та підвищення рівня їхніх кон'югатів, а також збільшення вмісту гормонів інгібіторного типу (Веденичева и др., 2002). Така реакція є неспецифічною і відповідає змінам, які відбуваються в рослинах за різних стресів. Це можна пояснити тим, що кліноостатування, безумовно, створює стресову ситуацію для рослин, головною складовою якої, очевидно, є зміна сили земного тяжіння. Оскільки сила

останнього впродовж еволюції рослинного світу ніколи не змінювалася, у рослин не міг сформуватися пристосувальний механізм до змін цього чинника, що пояснює неспецифічність реакції гормональної системи.

Раніше у рослин арабідопсису було встановлено зникнення геотропічної реакції за дії червоного світла, яка відновлюється нанесенням екзогенних цитокінінів, що свідчить про їхню участь у формуванні чутливості рослин до сили земного тяжіння (Golan et al., 1996). Тому можна припустити, що зниження рівня зеатину при кліноостатуванні є наслідком відсутності вектору гравітації.

Існує припущення, що ключову роль у гравітропізмі відіграє клітинна організація, і він має неоднакову генетичну основу в різних органах рослини (Ranjeva et al., 1999). У нашому експерименті було встановлено, що надземна і коренева частини *Phaseolus vulgaris* реагують на умови мікрогравітації по-різному, що підтверджується як на морфологічному рівні (зміни співвідношення пагін/корінь за довжиною і біомасою), так і на рівні регуляторних систем (кількісний перерозподіл компонентів гормонального комплексу). У коренях рослин *Brassica rapa* L. за 5 днів кліноостатування не було виявлено змін у вмісті зеатину, тоді як через 25 днів він зростає, а рівень ІОК й АБК підвищувався впродовж усього експерименту (Aarouf et al., 1999). Отже, в дослідженнях механізмів гравічутливості рослин необхідно враховувати не тільки тканеспецифічність дії гормонів, але й тривалість впливу мікрогравітації та фазу розвитку рослин.

Слід відзначити, що дані, отримані безпосередньо в умовах космічного польоту і при кліноостатуванні важко порівнювати, оскільки одним із суттєвих факторів, які впливають на рослини на борту космічного корабля, є гіпоксія. Остання, як відомо, спричиняє суттєві зміни у морфології рослин та вмісті фітогормонів (Yemelyanov, Shishova, 2012), зокрема цитокінінів

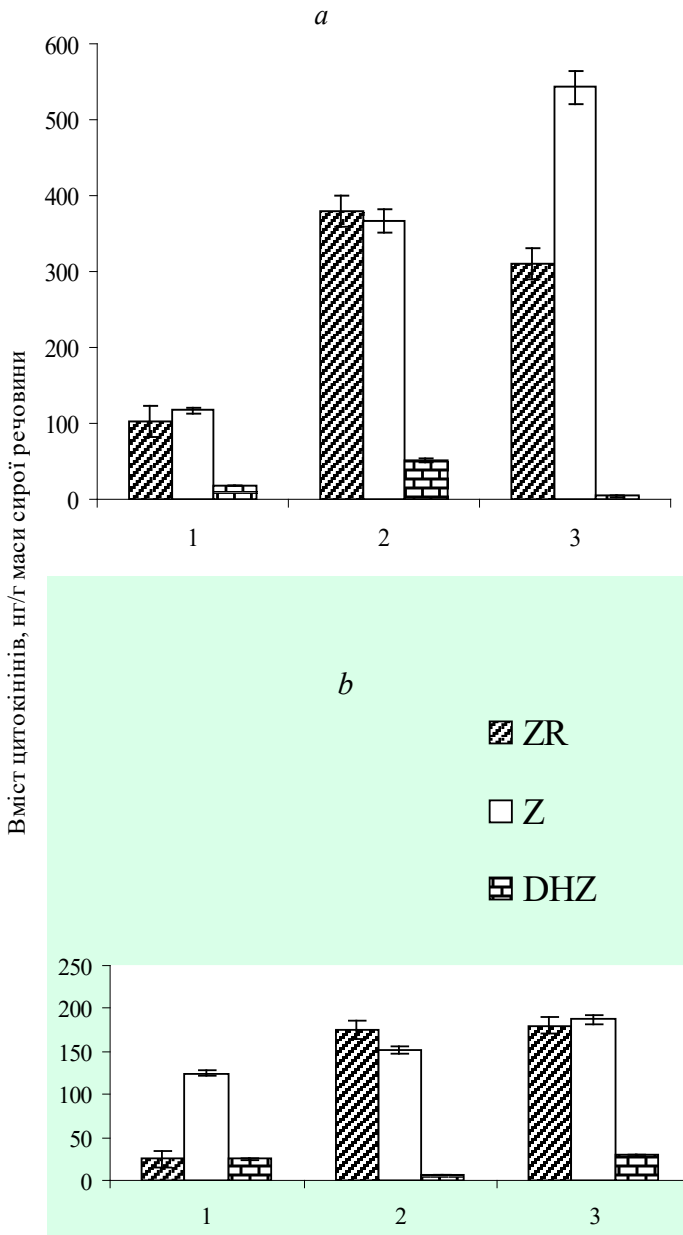
(Neuman et al., 1990). Однак, кліноостатування за умов нестачі кисню досі не проводилося через технічну складність подібних досліджень.

Гравітропізм, який вивчається на Землі, і реакція на невагомість, можуть мати різні механізми. Так, встановлено, що експресія генів, які індукуються нестачею кисню на Землі, не ідентична такій у космосі (Paul et al., 2001). Можливо, саме з цієї причини складно порівнювати дані, отримані за умов мікрогравітації або невагомості та при змінах гравітропічної реакції рослин при незмінній силі тяжіння. Для того, щоб відповісти на питання, чи має гравітропізм свою власну систему рецепції й трансдукції у порівнянні з іншими фізичними та хімічними факторами, необхідне проведення детальних експериментів в умовах космічного польоту.

## ГЛАВА 7

### ЦИТОКІНІНИ В ОРГАНАХ РОСЛИН ЗА РІЗНИХ УМОВ ЗРОСТАННЯ

Залежність рослин від навколишнього середовища як наслідок відсутності мобільності зумовлює високу пластичність їхнього розвитку і широкий діапазон пристосувальних реакцій до зміни факторів оточуючого середовища, основою чого є модифікація шляхів сприйняття й трансдукції зовнішніх сигналів. Одним із проявів адаптації до тривалих варіацій умов оточуючого середовища є фенотипічна пластичність організмів, тобто здатність генотипу реалізуватися в різних фенотипах у відповідь на різноманітні зовнішні впливи (Кордюм, 2012). Зміни морфологічних та фізіолого-біохімічних ознак, які складають прояви фенотипічної пластичності, є результатом зміненої генної експресії. Зараз не викликає сумніву участь фітогормонів, у тому числі й цитокінінів, у трансдукції сигналів навколишнього середовища та регуляції генної експресії (Argueso et al., 2009; Ha et al., 2012; Hwang et al., 2012). Більшість даних щодо участі цитокінінів у пристосувальних реакціях отримана в роботах із сільськогосподарськими культурними рослинами, які за своїми адаптивними властивостями належать до експлерентів, тобто є рослинами, що зростають за умов низької конкуренції, нестійкі до стресів і витрачають значну долю продуктів фотосинтезу на розвиток насіння. Щодо представників дикорослої флори з іншими типами екологічних стратегій, отримано лише відомості про більш високий вміст цитокінінів у підземній частині рослин рудерального типу (Борзенкова и др., 2001). Вивчення фітогормонального статусу дикорослих рослин з високою фенотипічною пластичністю, які здатні тривалий час рости і розмножуватися у несприятливих умовах, формуючи різні екотипи всередині одного виду, практично не проводилося.



Екотоп

Рис. 24. Вміст цитокинінів у суцвіттях (*a*) і листках (*b*) різних екотопів *Alisma plantago aquatica*: 1 – суходольний, 2 – проміжний, 3 – водний

Оперативна адаптація (приспосовування до конкретних умов існування) має на меті збереження репродуктивного потенціалу. Вона відбувається на фоні прискорення розвитку, тобто рослина у несприятливих умовах входить у генеративну фазу і закінчує її (плодоносить) набагато швидше, ніж у сприятливих. Прискорення розвитку у межах одного і того ж генотипу перш за все призводить до різкого зменшення розмірів рослин, тобто відбувається пригнічення росту, що є результатом фенотипічної пластичності (Lortie, Aarssen, 1996). На підставі уявлень про те, що фенотипічна пластичність є одним з виразних проявів оперативної адаптації припускається, що фенотипічна пластичність здійснюється в межах норми реакції на основі метаболічної та гормональної регуляції генної експресії (Кордюм, 2012). У зв'язку з цим інтерес становлять дослідження фітогормонального статусу рослин зі значним адаптаційним потенціалом і високим рівнем фенотипічної пластичності.

**Диференційований водний режим.** Високою фенотипічною пластичністю характеризуються повітряно-водні рослини частуха подорожникова *Alisma plantago aquatica* L. та вех широколистний *Sium latifolium* L., які ростуть, нормально розвиваються і розмножуються як у воді, так і на суходолі. При цьому особини різняться між собою лише розміром вегетативних органів: висота перших становила 1,5 м, других – 30 см. Порівняння цитокінінового статусу рослин різних екотипів показало, що суходольна форма відрізняється більш низькими рівнями зеатину та зеатинрибозиду в органах відносно водної й проміжної форм (рис. 24). Сумарний вміст цитокінінів у листках і суцвіттях водної форми був у 2,3 разів більше, ніж у суходольної. Зменшення розмірів і тривалості онтогенезу суходольних форм *A. plantago aquatica* свідчать про те, що вони зростають у несприятливих умовах порівняно

Таблиця 10. Вміст цитокінінів й АБК в органах рослин *Sium latifolium* упродовж вегетаційного сезону, нг/г сухої речовини

Рослинний матеріал	Фітогормон		
	Z	ZG	АБК
Стадія активного вегетативного росту			
Листки: Водна форма	1524 ± 131	0	786 ± 31
Суходольна форма	1010 ± 185	0	899 ± 39
Стадія активного росту суцвіття			
Листки: Водна форма	870 ± 74	0	795 ± 30
Суходольна форма	398 ± 45	0	1135 ± 48
Суцвіття: Водна форма	1428 ± 132	0	1047 ± 51
Суходольна форма	783 ± 69	0	1240 ± 63
Стадія цвітіння			
Листки: Водна форма	689 ± 58	213 ± 25	875 ± 29
Суходольна форма	326 ± 41	274 ± 32	1063 ± 45
Суцвіття: Водна форма	1379 ± 117	147 ± 81	1246 ± 57
Суходольна форма	848 ± 78	150 ± 92	1436 ± 68
Стадія формування насіння			
Насіння: Водна форма	1336 ± 111	211 ± 25	445 ± 21
Суходольна форма	949 ± 89	218 ± 23	605 ± 26

з водними. Зниження вмісту цитокінінів відмічалось раніше у рослин в умовах несприятливого водного режиму (Pospíšilová et al., 2000). Різниця у вмісті цитокінінів різних екотипів частухи подорожникової, очевидно, слугує одним з факторів регуляції розмірів рослин, і підтримується впродовж вегетації, сприяючи пристосуванню до умов зниженої гідратації. У листках суходольної форми ростові процеси гальмувалися на фоні домінування АБК, тоді як у листках водної форми переважали цитокінінові гормони (Веденичева и др., 1995). Отже, адаптація рослин *A. plantago aquatica* до більш посушливих умов зростання, очевидно, контролюється балансом співвідношення вмісту цитокініні/АБК.



Порівняння двох екологічних форм *Sium latifolium* показало, що листки, суцвіття й насіння водних рослин містили в 1,5–2 рази більше зеатину, ніж суходольних, тоді як вміст зеатин-О-глюкозиду в них був майже однаковим (табл. 10). В органах суходольної форми *S. latifolium* підтримувався підвищений вміст АБК на фоні зниженого рівня зеатину порівняно з водним екотипом. Така закономірність зберігалася впродовж усього вегетаційного періоду, починаючи від стадії активного вегетативного росту і до стадії дозрівання плодів.

Отже, дослідження ендогенних цитокінінів у різних екотипів повітряно-водних рослин показало, що постійне зростання в умовах помірного водного дефіциту, пов'язане зі значним зменшенням розмірів рослин, супроводжується відносно низьким вмістом зеатинових форм гормонів на фоні підвищеного рівня АБК.

У суходольних рослин спостерігається аналогічний розподіл цитокінінів у вегетативних і генеративних органах, як і для водних форм, що дозволяє підтримувати інтенсивність репродукції двох екотипів на однаковому рівні. Рослини з високим потенціалом фенотипічної пластичності, що здатні в межах одного генотипу створювати різні фенотипи залежно від умов існування, підтримують тривалий час баланс фітогормонів відповідно до умов оточуючого середовища. Він, вірогідно, може бути регуляторною основою диференційованої експресії генів у рослин різних екотипів (Веденичова та ін., 2004).

**Гермооб'єм.** У природних умовах обмежене постачання кисню для всієї рослини зустрічається рідко, за виключенням високогір'я. Проте в умовах замкненого простору при штучному вирощуванні ця проблема стає чи не найголовнішою. Особливо вона актуальна для рослин, що ростуть на борту орбітальних станцій та космічних кораблів. При цьому гіпоксія, викликана нестачею газообміну, може бути лімітуючим фактором росту

не менше, ніж невагомість. Умови космічного польоту майже завжди негативно впливають на розвиток рослин (Меркис, 1990). Наприклад, маса сирої речовини проростків пшениці зменшувалась на 25% після 10-добового польоту на борту космічного корабля «Discovery» (Tripathy et al., 1996). Зниження вмісту кисню в оточуючому середовищі до 2,5% призводить до значного зменшення розмірів рослин арабідопсису та підвищення щільності продихів (Ramonell, Musgrave, 1998). Гальмування розвитку рослин у замкненому просторі може відбуватися також за рахунок накопичення етилену. Експериментально це було показано на рослинах пшениці, які росли на борту станції «Мир» (Campbell et al., 1998). Також встановлено, що гіпоксія негативно впливає на синтез брассинолідів (Ramonell, Musgrave, 1998), а це, безперечно, може призвести до загального порушення балансу гормонів, і, як наслідок, до морфологічних змін.

Одним із засобів моделювання умов обмеженого простору є вирощування рослин у герметично замкнених камерах протягом тривалого часу. Цей спосіб утримання рослин відомий ще з XIX сторіччя. Останнім часом він привертає підвищену увагу, оскільки дозволяє з одного боку, визначити рослини з підвищеною стійкістю до умов обмеженого простору, а з іншого, – встановити реакцію різних рослин на ці умови на фізіологічному та біохімічному рівнях. При дослідженні різних видів орхідних було показано, що тривале перебування в герметичній камері призводило до збільшення вмісту фотосинтетичних пігментів, підвищення активності окисно-відновних ферментів та зменшення кількості лабільних цукрів (Заїменко, Черевченко, 1999). Рослини *Singonium auritum* (L.) Schott за 9 місяців зростання в герметично замкнених камерах виявляли незначні морфологічні відхилення (збільшення товщини листової пластинки за рахунок кутикули верхньої епідерми та порушення структурно-функціональної організації

**Таблиця 11. Вміст цитокинінів й АБК у рослин *Singonium auritum* в умовах герметичної камери, нг/г маси сирової речовини**

Рослинний матеріал	Фітогормон			
	ZR	Z	ZG	АБК
Контроль				
Корені	480,0 ± 16,1	680,0 ± 9,3	358,3 ± 7,1	36,0 ± 4,1
Надземна частина	Сліди	270,0 ± 5,9	175,1 ± 4,4	36,0 ± 3,8
Дослід				
Корені	204,0 ± 3,7	126,2 ± 5,1	203,4 ± 7,4	0
Надземна частина	Сліди	30,4 ± 1,2	45,3 ± 1,4	20,0 ± 2,1

фотосинтетичного апарату) (Черевченко та ін., 2003). У рослин з герметичної камери вміст усіх цитокинінів був значно менше, ніж у контрольних. Суттєво зменшувався рівень АБК (табл. 11), а отже і співвідношення вмісту цитокиніни/АБК – від 8,6 для надземної частини в контрольних умовах до 2,4 в умовах герметичної камери (Веденичова та ін., 2003).

Зниження рівня цитокинінів у різних видів рослин спостерігається за дії гіпоксії (Neuman et al., 1990), при фосфорному та калійному голодуванні (Argueso et al., 2009). Зменшений вміст зеатину, зеатинрибозиду та зеатин-О-глюкозиду у сингоніума в умовах гермооб'єму, вочевидь, є результатом відсутності оптимальної кількості кисню або поживних речовин у середовищі. Отже, адаптація рослин сингоніума до тривалого зростання у замкнутому просторі на регуляторному рівні проявляється у зміні співвідношення окремих компонентів гормонального комплексу. Вірогідно, така перебудова дозволяє рослині підтримувати відносно нормальний ріст і розвиток у незвичному середовищі існування.

**Солончаки.** Засолення ґрунтів є одним із головних екологічних факторів, який лімітує ріст і продуктивність рослин. Адаптація до засолення відбувається на різних ієрархічних рівнях від молекулярного до популяційного

Таблиця 12. Вміст цитокінінів у листках *Euphorbia paralias* та *Polygonum maritimum*, нг/г маси сирової речовини

Цитокінін						
<i>t-Z</i>	<i>c-Z</i>	ZR	ZOG	iPa	iP	Σ
<i>Euphorbia paralias</i>						
81,5±3,9	250,3±12,01	219,3±10,8	163,4±7,6	25,4±1,2	23,4±1,1	763,3
<i>Polygonum maritimum</i>						
37,2±1,7	33,2±1,5	129,3±6,4	289,6±14,3	124,4±6,2	330,0±16,3	943,7

(Munns, Tester, 2008). Галофіти – гетерогенна група рослин, яка об'єднує представників різних таксонів, життєвих форм та екологічних типів. Адаптація до існування на засоленних ґрунтах відбувається завдяки реалізації різних метаболічних та фізіологічних стратегій. Так, еугалофіти накопичують солі всередині рослини, кріногалофіти, навпаки, виводять сіль з рослини назовні, тоді як глікогалофіти непроникні для солей.

Солестійкість рослин контролюється фітогормонами, зокрема цитокінінами. Хоча рівень цих гормонів у глікофітів за дії солей зазвичай знижується (Munns, Tester, 2008; Ghanem et al., 2011; Javid et al., 2011), показано, що стійкі до засолення сорти альфальфа характеризувалися більш високим конститутивним рівнем ендогенних цитокінінів (у 1,5–2 рази), ніж слабостійкі (Ben Salah et al., 2013). Підвищення синтезу цитокінінів у коренях томатів значно покращувало солестійкість рослин, гальмувало старіння листків, підтримувало вегетаційний ріст і продуктивність при засоленні (Albacete et al., 2010). Позитивний ефект обробки АБК на солестійкість *Mesembryanthemum crystallinum* пов'язаний з підтриманням певного рівня цитокінінів (Stetsenko et al., 2015), які, як відомо, володіють атрагуючою здатністю щодо асимілятів. Саме гормональна регуляція асиміляційних потоків під час осмотичної (незалежної від дії специфічних іонів) фази

реакції на засолення впливає на здатність рослин підтримувати ріст і виживати при сольовому стресі (Perez-Alfocea et al., 2010; Albacete et al., 2014). Співвідношення вмісту АБК й активних форм цитокінінів у листках *M. crystallinum* при засоленні значно змінюється (Stetsenko et al., 2015).

Глікогалофіт *Polygonum maritimum* L. та еугалофіт *Euphorbia paralias* L., що зростали в природних умовах на дюнах Поморійського озера (Болгарія), висока солоність (60–80%) води якого сприяла утворенню унікального екологічного середовища, суттєво відрізнялися за вмістом ендогенних цитокінінів (табл. 12).

У листках *E. paralias*, непроникного для солей, домінували зеатинові форми, причому рівень неактивних цитокінінів (цис-зеатину й зеатин-О-глюкозиду) був значно вище, ніж активних (транс-зеатину і зеатинрибозиду). Листки *P. maritimum*, здатні накопичувати сіль, містили значні кількості ізопентенільних форм – ізопентеніладенозину й ізопентеніладеніну, що не характерно для вищих рослин за нормальних умов, а серед зеатинових форм переважав О-глюкозид зеатину. Крім того, висока сумарна концентрація цитокінінів та їхніх активних форм у листках *P. maritimum* збігається з більш високим вмістом пігментів у порівнянні з *E. paralias* (Kosakivska et al., 2017). Як відомо, цитокініни відіграють суттєву роль у збереженні структури й функціонуванні фотосинтетичного апарату за стресових умов (Чернядєв, 2009). Обробка цитокінінами підтримувала високий траскрипційний рівень генів, зв'язаних з фотосистемою II, та співвідношення хлорофілів *a/b*, що сприяло стабільності фотосинтетичних пігментів у рису (Talla et al., 2016). Таким чином, видоспецифічність цитокінінового статусу досліджених галофітів може бути пов'язана з типом їхньої загальної стратегії щодо виживання в умовах підвищеного засолення ґрунту.

## ГЛАВА 8

### ВЗАЄМОДІЯ ЦИТОКІНІНІВ З ІНШИМИ ФІТОГОРМОНАМИ АБО МНОЖИННА ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ

У ході досліджень, проведених за більше, ніж піввіку з початку відкриття цитокінінів і до нині, зосереджених на з'ясуванні їхніх функцій та механізму дії, накопичилося багато даних, які свідчать про існування тісного взаємозв'язку між цитокінінами й іншими фітогормонами. В останнє десятиріччя остаточно сформувалася концепція множинної гормональної регуляції онтогенезу рослин, згідно до якої сигнальні шляхи окремих гормонів не просто перетинаються, а утворюють єдину інтегративну систему, в якій фітогормони здійснюють управління як програмами внутрішнього розвитку, так і регулюють відповіді на зовнішні впливи комплексно, шляхом синергічної або антагоністичної дії (El-Showk et al., 2013; Munné-Bosh, Müller, 2013; O'Brien, Benkova, 2013; Yang et al., 2014).

Ще в перших піонерних роботах з вивчення цитокінінів було показано, що органогенез *in vitro* контролюється кількісним співвідношенням цитокініну й ауксину в культуральному середовищі: переважання ауксину призводило до регенерації коріння, тоді як при більш високих концентраціях цитокініну утворювався пагін (Skoog, Miller, 1957). У подальшому було встановлено, що баланс цих гормонів відіграє ключову роль у формуванні й функціонуванні цілісної рослини (Coenen, Lomax, 1997; Rashotte et al., 2005). Такі фундаментальні процеси, як ембріогенез (Müller, Sheen, 2008), розвиток і підтримка меристеми (Moubayidin et al., 2009), галуження пагону (Muller, Leyser, 2011; Young et al., 2014), ініціація та розвиток бічних коренів (Aloni et al., 2006; Osmont et al., 2007) контролюються співвідношенням цитокінінів й ауксинів, при цьому їхня дія лише в деяких випадках є синергічною.

Найкраще антагонізм ауксинів і цитокінінів проявляється в явищі апікального домінування, яке підтримується ауксином і знімається цитокінінами. Нанесення цитокінінів на бічні бруньки запускає їхній ріст навіть при наявності ростучого апексу пагону або нанесеного замість нього ауксину (Faiss et al., 1997). У сегментах стебла арабідопсису, на яких залишалася одна брунька, базально нанесений цитокінін спричиняв її ріст у присутності апікально нанесеного ауксину (Chatfield et al., 2000). У бобів після декапітації рослин спостерігалось збільшення вмісту цитокінінів у ксилемному соці, якого можна було запобігти нанесенням ауксину на місце декапітації (Bangerth et al., 2000). Ці дані свідчили про можливість того, що надходження цитокінінів від коренів регулює галуження стебла, гальмоване ауксином. Пізніше було встановлено, що ауксин інгібує біосинтез цитокінінів і в такий спосіб перешкоджає їхньому надходженню до аксиллярних бруньок, гальмуючи ріст останніх (Nordström et al., 2004). Взаємний вплив ауксинів і цитокінінів на біосинтез продемонстровано на трансгенних рослинах тютюну: оверпродукція ІОК зменшувала пул цитокінінів і, навпаки, оверпродукція цитокінінів знижувала рівень ІОК (Eklöf et al., 1997; Eklöf et al., 2000). Крім того, було з'ясовано, що ауксин репресує і локальний біосинтез цитокінінів у стеблі: в ізольованих сегментах стебла гороху експресія генів *IPT* припинялася після додавання ІОК (Tanaka et al., 2006b). Слід відзначити, що взаємовплив цитокінінів і ауксинів не рівнозначний: дія ауксину на біосинтез цитокінінів була швидкою, а отже потенційно могла впливати на контроль за розвитком рослини, тоді як ефект цитокінінів на біосинтез ауксину був віддалений у часі, тобто, ймовірніше за все, він був опосередкований іншими речовинами (Nordström et al., 2004). Повідомлялося також про позитивний вплив обробки цитокінінами на біосинтез ауксину в молодих швидко ростучих частинах арабідопсису, а також на зниження вмісту транскриптів

генів біосинтезу ауксину при зменшенні рівня цитокінінів за рахунок оверекспресії *CKX* або репресії *IPT* (Jones et al., 2010).

Протилежна дія цитокінінів й ауксинів спостерігається у меристематичних тканинах. У корневих меристемах ауксин індукує поділ клітин, тоді як цитокініни сприяють їхньому переходу з меристематичного у диференційований стан. У меристемах пагону, навпаки, цитокініни активують проліферацію клітин стебла та інгібують їхню диференціацію, в той час, як ауксин ініціює закладання примордіїв органів (Moubayidin et al., 2009; Su et al., 2011). Антагонізм цитокінінів й ауксинів проявляється також під час розвитку кореневої системи: ауксин стимулює утворення латеральних і адвентивних коренів, тоді як нанесення цитокінінів у фізіологічних концентраціях інгібують утворення коренів та знімає ефект ауксину (Aloni et al., 2006). У коренях базипетальний транспорт цитокінінів контролює полярний транспорт ауксину і у такий спосіб підтримує формування судинної системи (Bishopp et al., 2011a); а ауксин активує інгібітор сигналіngu цитокінінів АНР6 (Bishopp et al., 2011), таким чином утворюється механізм за принципом петлі зі зворотним зв'язком, який підтримує оптимальну для росту концентрацію двох гормонів.

Дослідження на молекулярному рівні виявили вплив ауксинів на гени не тільки біосинтезу, але і метаболізму та сигналіngu цитокінінів. Ауксин слабо пригнічував гени *CKX2*, *CKX4* і *CKX7* та активував такі *CKX1* і *CKX6* (Werner et al., 2006). Показано, що в ембріональних тканинах арабідопсису ауксин прямо активує гени, що кодують два білки-регулятори відповіді на цитокініни типу А, *ARR7* і *ARR15*, таким чином інгібуючи передачу цитокінінових сигналів (Müller, Sheen, 2008). За іншими даними, у верхівковій меристемі пагона ауксин, навпаки, репресує ці гени, тобто діє синергічно з цитокінінами (Zhao et al., 2010).



Цитокініни також контролюють сигналінг ауксинів. Дослідження в цьому напрямку були зосереджені на вивченні впливу цитокінінів на полярний транспорт ауксинів. Так, зменшення відтоку ауксинів за дії цитокінінів було продемонстровано на культурі клітин тютюну (Růžička et al., 2009). Репресування цитокінінами генів родини *PIN*, які кодують білки-транспортери ауксинів, спричиняло гальмування ініціації примордіїв латеральних коренів (Laplaze et al., 2007) та змінювало напрямок органогенезу в культурі *in vitro* (Pernisová et al., 2009). У кореневій меристемі арабідопсису цитокініни зменшували експресію лише генів *PIN1* та *PIN3*, тоді як експресія гену *PIN7* зростала (Růžička et al., 2009). В аксиллярних бруньках гороху цитокініни позитивно впливали на експресію гену *PIN1*, а також змінювали його локалізацію на клітинному рівні (Kalousek et al., 2010). Встановлено, що за впливу цитокінінів білки PIN переміщуються з плазматичної мембрани у вакуолі, де руйнуються (Marhavý et al., 2011).

Отже, взаємозв'язки між цитокінінами й ауксинами носять здебільшого антагоністичний характер. Регулюючи біосинтез та сигналінг одне одного, ці два гормони утворюють складний гомеостатичний механізм, що дуже тонко збалансовує їхнє співвідношення й визначає архітекtonіку цілісної рослини.

Взаємодія цитокінінів і гіберелінів мало досліджена. В літературі 70–80-х років ХХ сторіччя ці гормони розглядалися як синергісти, зокрема, в таких процесах, як проростання насіння, затримка пожовтіння листків, стимуляція росту ізольованих сім'ядолей (Кулаева, 1973; Муромцев и др., 1987). Протилежною була їхня дія на диференціацію статі у рослин: цитокінін спрямовував її в бік формування жіночих квіток, а гіберелін – чоловічих (Чайлахян, Хрянин, 1982). За іншими даними, як цитокініни, так і гібереліни стимулювали розвиток чоловічих органів у арабідопсису й тютюну (Huang et al., 2003). Публікації останнього десятиріччя свідчать про антагонізм

цитокінінів і гіберелінів (Weiss, Ori, 2007). Зокрема, цитокініни активували експресію генів, задіяних у катаболізмі гіберелінів, підтримуючи низький рівень останніх у верхівковій меристемі пагона. Медіатором цього процесу слугував високоспецифічний білок-регулятор росту цієї меристеми KNOX, який є індуктором синтезу цитокінінів (Jasinski et al., 2005). Крім того, дія екзогенних цитокінінів призводила до інгібування генів біосинтезу та стимулювання генів-репресорів гіберелінів (Brenner et al., 2005). Специфічний інгібітор відповіді на гібереліни SPINDLY (SPY) діяв як позитивний регулятор сигналіngu цитокінінів (Greenboim-Wainberg et al., 2005). У мутантних рослин арабідопсису гальмування сигналіngu гіберелінів активувало сигналінг цитокінінів опосередковано через SPY (Putarjunan et al., 2014). У рослин томата гібереліни інгібували всі відповіді на цитокініни та індукували гени первинної відповіді на цитокініни типу А, а цитокініни в свою чергу інгібували відповіді на гібереліни (Fleishon et al., 2011).

Таким чином, згідно до сучасних уявлень, цитокініни та гібереліни діють як антагоністи в процесах регуляції росту і розвитку рослин, причому ця взаємодія, очевидно, опосередкована білковими регуляторами, специфічними для певних процесів або тканин.

Однією з характерних рис функціонування фітогормональної системи є протилежна дія цитокінінів й абсцизової кислоти на різні фізіологічні процеси, такі як продихові рухи, стан спокою бруньок і насіння, старіння листків, реакція на стреси тощо (Chow, McCourt, 2004; Pospíšilová et al., 2005). Проте досліджень, які б демонстрували механізми взаємозв'язку цих двох гормонів, небагато. Було показано, що цитокініни гальмували індуковане абсцизовою кислотою закриття продихів (Tanaka et al., 2006b), нівелювали викликане АБК інгібування проростання насіння та росту й позеленіння гіпокотилія (Guan et al., 2014). Екзогенна обробка АБК викликала зниження вмісту

цитокінінів у проростках кукурудзи (Теплова и др., 1990) та гороху (Vaseva et al., 2008). Накопичення АБК при стресах активувало деактивацію і деградацію цитокінінів (Кудоярова и др., 1999). Виявлено репресію генів *IPT* за дії АБК (Nishiyama et al., 2011). Разом з цим, у декількох роботах показано, що АБК репресує гени *СКХ* (Werner et al., 2006; Vaseva et al., 2008; Nishiyama et al., 2011), що мало б привести до накопичення цитокінінів, проте цього не відбувалося.

Взаємозв'язок між системами сигналіngu цитокінінів й АБК встановлено в роботах останнього часу (Tran et al., 2010; Maquyama et al., 2014). Показано, що білки-рецептори цитокінінів виконують функції негативного регулятора сигналіngu АБК (Tran et al., 2007). Мутанти за рецепторами цитокінінів (*ahk2*, *ahk3*, *ahk4*) проявляли гіперчутливість до АБК, що значно підвищувало їхню стійкість до стресів (Jeon et al., 2010). Цитокініни індукували деградацію транскрипційного фактору ABI5, який регулює сигналінг АБК (Guan et al., 2014). Білки-регулятори відповіді на цитокініни типу А ARR4, ARR5 і ARR6 негативно регулювали експресію білка ABI5, причому взаємодія цих білків відбувалася безпосередньо (Wang et al., 2011). Тривала обробка АБК у свою чергу негативно впливала на експресію генів біосинтезу, метаболізму і сигналіngu цитокінінів, тоді як нетривала обробка (1 год) не давала ніякого ефекту (Yang et al., 2014).

При стресах вміст АБК зростає, тоді як рівень ендогенних цитокінінів зменшується (Javid et al., 2011; Ha et al., 2012); також активується сигналінг АБК і гальмується сигналінг цитокінінів (Maquyama et al., 2014). Вважається, що при водному, осмотичному та високотемпературному стресах важливу роль відіграє антагонізм цих двох гормонів у продишових клітинах: збільшення співвідношення АБК/цитокініни спричиняє закриття продихів і запобігає втратам вологи (Wolters, Jürgens, 2009). Проте цитокінін-дефіцитні рослини арабідопсису,

які характеризувалися підвищеною стійкістю до стресів, не відрізнялися від рослин дикого типу ні за щільністю, ні за АБК-залежною поведінкою проростків (Nishiyama et al., 2011).

Слід відзначити, що інколи спостерігається синергічна взаємодія цитокінінів й АБК. Наприклад, обидва гормони активували утворення бульб у картоплі (Уэринг, 1984). Цитокініни й АБК підвищували стійкість коренів до посухи, виступаючи при цьому як антагоністи ауксину (Havlova et al., 2008). Синергізм двох гормонів проявляється також при гальмуванні утворення бічних коренів в арабідопсису: екзогенне нанесення кожного з них активувало експресію білка ABI4 та транспортера ауксину PIN4, знижуючи полярний транспорт ауксину, необхідного для розвитку коренів (Shkolnik-Inbar, Bar-Zvi, 2010).

Наведені вище приклади свідчать про те, що взаємодія цитокінінів і АБК відбувається на рівні метаболізму й сигналіngu обох гормонів. Не зважаючи на деяку суперечливість даних, можна зробити висновок, що вирішальну роль у регуляції фізіологічних процесів відіграє співвідношення вмісту АБК/цитокініни. При адаптації рослин до зовнішніх чинників останнє змінюється на користь АБК (Ha et al., 2012; El-Showk et al., 2013). Цей факт враховується у сучасній сільськогосподарській практиці при підбиранні препаратів для екзогенної обробки рослин з метою покращення їхньої посухостійкості (Sarafraz-Ardakani et al., 2014).

В окремих публікаціях повідомляється, що фізіологічна дія цитокінінів та ауксинів може бути опосередкована етиленом. За допомогою етилен-нечутливих мутантів було показано, що викликане кінетином й ауксином гальмування АБК-індукованого закриття проростків модулюється біосинтезом цього газоподібного гормону (Tanaka et al., 2006a). Гальмування росту коренів і гіпокотилу проростків арабідопсису екзогенним цитокініном значно зменшувалося за дії інгібітору біосинтезу і

сигналіngu етилену, а в етилен-нечутливих мутантів *Medicago* ці ефекти цитокінінів взагалі не спостерігалися (Cary et al., 1995). Взаємодія цитокінінів, АБК й етилену була продемонстрована при проростанні насіння арабідопсису: цитокінін відновлював підвищену чутливість мутантів з репресованим сигналіngом етилену до АБК (Subbiah, Reddy, 2010). Формування коренів арабідопсису контролюється цитокінінами, ауксинами й етиленом шляхом їхньої одночасної дії на активність білка-транспортера ауксинів PIN та на поліпептид POLARIS, які є основними формотворчими факторами кореневої системи (Liu et al., 2013). Взаємодія цих трьох гормонів визначає також гравітропізм кореню, причому компоненти сигналіngової системи відіграють більш важливу роль, ніж біосинтез гормонів (Kushwah et al., 2011). Відомо, що цитокініни стимулюють біосинтез етилену в ізольованих листках рису (Fuchs, Lieberman, 1968) та пшениці (McKeon et al., 1982), в гіпокотиллях арабідопсису (Woeste et al., 1999). Вважають, що це відбувається через посттранскрипційну активацію цитокінінами генів біосинтезу етилену (Vogel et al., 1998) та підвищення ними стабільності ключового ферменту цього процесу – синтази 1-аміноциклопропан-1-карбонової кислоти (АЦК) (Chae et al., 2003). Етилен в свою чергу впливає на сигналіng цитокінінів. Дослідження трансформованих рослин показало, що у етилен-нечутливих мутантів підвищується транскрипція білків первинної відповіді на цитокініни ARR5, ARR7 і ARR15, яка різко знижується при обробці попередником АЦК (Shi et al., 2012).

Наведені приклади свідчать про те, що при взаємодії цитокінінів й етилену перетинаються різні компоненти їхніх сигнальних і біосинтетичних шляхів, що має суттєве значення для регуляції формотворчих процесів у рослин.

Взаємозв'язки цитокінінів та «некласичних» гормонів досліджено поки що дуже поверхнево. Є відомості про їхній

антагонізм зі стріголактонами у локальному контролі за ростом бруньок (Ferguson, Beveridge, 2009; Cheng et al., 2013). Показано, що цитокініни запобігають активації генів біосинтезу стріголактонів ауксинами (Bainbridge et al., 2005). Встановлено транскрипційний фактор, через який відбувається їхня взаємодія (Dun et al., 2012). Жасмонова кислота, як правило, виступає в ролі інгібітора цитокінін-стимульованих ростових процесів у рослин (Ueda, Kato, 1982; Ananieva, Ananiev, 2000), хоча є інформація щодо збільшення рівня вільних і зв'язаних форм цитокінінів за екзогенної обробки цим регулятором росту (Dermastia et al., 1994). Взаємозв'язки цитокінінів і саліцилової кислоти розглядаються як синегричні, головним чином, у контексті формування імунних реакцій при біотичному пошкодженні (Argueso et al., 2012; Jiang et al., 2013; Naseem et al., 2013). Брасиностероїди є позитивними регуляторами сигналіngu цитокінінів, підвищують їхній ендogenous вміст (Kudryakova et al., 2013) та синергічно впливають на фізіологічні процеси (Bajguz, Piotrowska-Niczyporuk, 2014).

Як свідчать наведені вище факти, існують тісні взаємозв'язки між усіма компонентами гормональної системи рослин. Зміни, які відбуваються у метаболізмі одного гормону, удосить швидкий термін відбиваються на експресії генів біосинтезу й сигналіngu всіх інших, що призводить до перетворення всього балансу гормонів. Деякі протиріччя і розбіжності отриманих даних пояснюються тим, що часто як при плануванні дослідів, так і при інтерпретації отриманих даних дослідники не враховують видо- й тканиноспецифічність гормональної дії. Наприклад, екзогенні цитокініни стимулюють акумуляцію АБК у пагонах, але не в коренях, в той час як етилен накопичується тільки в коренях у відповідь на дію цитокінінів (Žďárská et al., 2013). Проте, складаючи схеми дії й моделюючи регуляцію тих чи інших процесів, автори спираються на всі відомі дані, отримані на різних об'єктах і органах (Garay-Arroyo et al., 2012; Voß et al.,

2014). Цих недоліків неможливо уникнути на сучасному етапі розвитку фітогормонології, який характеризується активним накопиченням відомостей, яких поки що недостатньо для широкомасштабних узагальнень і однозначних висновків. Тісний взаємовплив фітогормонів також демонструє певну нефізіологічність досліджень, у яких застосовуються екзогенні гормони або мутанти з дефіцитом чи гіперсинтезом різних гормонів. Адже зміни вмісту одного гормону спричиняють перетворення у метаболізмі інших, що у свою чергу діє на рівень і функціонування вихідного фітогормону, а також запускає серію подій, не характерних *in planta*. Замкнута кільцева система координації та перехресування сигнальних і метаболічних шляхів сформувалася еволюційно для підтримання гормонального гомеостазу та стабільності регуляторики, проте вона суттєво перешкоджає вивченню окремих гормонів.

## ГЛАВА 9

### **ВПЛИВ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ НА БАЛАНС ЦИТОКІНІНІВ У РОСЛИН ЗА РІЗНИХ УМОВ ВИРОЩУВАННЯ**

Відкриття ендогенних регуляторів росту (фітогормонів) викликало значний інтерес до їхнього практичного застосування. Вже з 30-х років ХХ сторіччя розпочалося активне вивчення ефектів, спричинених екзогенним застосуванням речовин, здатних змінювати морфологію та фізіологічні властивості рослин. Ідея штучного управління ростом, розвитком і продуктивністю рослин знайшла широке розповсюдження серед агрохіміків. Усього за декілька десятиліть було створено велику кількість препаратів як природного походження, так і синтезованих хімічно, сфера використання яких поширювалася практично на всі етапи життєдіяльності рослин (Муромцев и др., 1987; Калинин, 1989). За допомогою біологічно активних речовин стимулюють проростання насіння, мобілізацію й транспорт поживних речовин, підвищують стрес-толерантність та стійкість до хвороб. Їх використовують для всебічних модифікацій швидкості та напрямку росту, для запобігання виляганню злаків, для синхронізації дозрівання плодів, затримки старіння, покращення якісних і кількісних показників урожаю тощо (Пономаренко, 2003). Застосування регуляторів росту рослин стає все більш перспективним засобом інтенсифікації сільськогосподарського виробництва, оскільки використання їх у невеликих дозах дає результати, які неможливо досягти іншими методами. Незважаючи на це, рістрегулюючі речовини поки що поступаються добривам і пестицидам у системах удосконалення технологій виробництва рослинної продукції. Це, у першу чергу, пов'язано з тим, що результати їхнього застосування значно залежать від виду рослини, стадії її розвитку, способів і місця нанесення препарату, його концентрації, кліматичної та ґрунтової



обстановки, агротехнічних заходів та інших умов, не всі з яких ще встановлені. Тому розробка теорії застосування фізіологічно активних речовин у рослинництві вкрай необхідна.

Слід зазначити, що переважна кількість регуляторів росту рослин є синтетичними препаратами, виробництво яких вимагає значних матеріальних витрат, а використання створює додаткове хімічне забруднення довкілля. Перевірка їхньої біологічної безпеки для тварин і людини також потребує коштів, і, головне, тривалого часу. Тому все більшої актуальності набуває розробка методів отримання фізіологічно активних препаратів для потреб сільського господарства з природної біологічної сировини, яка містить природні фітогормони (Яворська та ін., 2006), а також дослідження екзогенної дії фітогормонів на процеси морфогенезу, стійкості та репродукції рослин. Розуміння механізмів впливу природних регуляторів на процеси вегетативного росту й репродуктивного розвитку рослин не тільки сприяє розширенню уявлень про їхнє функціонування, але й створює підґрунтя для розробки біотехнологій для агровиробництва.

Дія екзогенних фітогормонів, яка позначається на фізіолого-біохімічних процесах рослини на усіх рівнях і відбивається на її габітусі в цілому, не може не торкатися системи ендогенної регуляції. Найбільш вірогідно, що саме зміни у балансі ендогенних фітогормонів за дії екзогенних спричиняють певні ростові модифікації і є відправною точкою їхньої дії. Дослідження взаємодії фітогормонів (“crosstalk”) привертають на особливу увагу в останні декілька років (Cui, Luan, 2012; Vanstraelen, Benková, 2012). Однак, ще дуже мало відомо про зміни статусу окремих компонентів гормонального комплексу під впливом інших за певних умов. З’ясуванню цього питання присвячено декілька експериментів, описаних нижче.

**Формативний ефект ІОК у проростках одно- та дводольних рослин.** Один здавна відомих впливів екзогенних фітогормонів на морфогенез рослин є так званий формативний ефект ауксинів. Уперше його було продемонстровано на проростках кукурудзи М.Г. Холодним (Холодний, 1939), пізніше його детально описували інші автори (Хамнер, Тукей, 1958). Відхилення від нормального росту, які спостерігаються за дії ІОК або її синтетичних аналогів (НУК, 2,4-Д), стосуються розмірів, форми, загального вигляду й анатомічної будови органів рослин. Як відомо, ендogenous ауксини регулюють розтягування та поділ клітин, ембріогенез, формування коренів та інших органів, диференціацію провідних тканин, тропізми, відповідають за апікальне домінування тощо (Ljung, 2013). При екзогенному застосуванні ці фітогормони не мають стимулюючого впливу на ростові процеси. Більше того, синтетичний ауксин 2,4-Д володіє вираженим гербіцидним ефектом (Муромцев и др., 1987). Серед морфогенетичних проявів зовнішньої дії ауксинів найбільш відома здатність індукувати коренеутворення (Saini et al., 2013). Проте обробка коренів розчином ІОК спричиняє гальмування їхнього росту вдовжину, потовщення та деформацію (Overvoorde et al., 2010). Це один з найтипівіших прикладів формативного ефекту ауксинів. Причини такої дії цих гормонів практично не досліджено. Висловлювалося припущення, що головним фактором негативного впливу ауксинів на ріст є порушення загального гормонального балансу (Vanneste, Friml, 2009). З метою перевірки такої гіпотези та для більш повного з'ясування механізму екзогенної дії ауксинів було досліджено вплив ІОК у різних концентраціях на проростки одно- та дводольних рослин і вміст у них ендogenous цитокінінів.

Насіння квасолі (*Phaseolus vulgaris* L.) сорту Білозерна та кукурудзи (*Zea mays* L.) сорту Дніпровська 247 інкубували в термостаті у темряві при +27 °C упродовж 3-х діб у розчинах

**Таблиця 13. Вміст цитокінінів у зародкових органах 3-добових проростків *Phaseolus vulgaris* після інкубації насіння на розчинах ауксинів, нг/г маси сирої речовини**

Середовище інкубації	Цитокінін	
	ZR	DHZ
Зародкова вісь		
Контроль	72,9 ± 3,3	390,6 ± 18,5
ІОК, 10 <sup>-6</sup> М	275,6 ± 13,0	114,8 ± 5,0
НУК, 10 <sup>-6</sup> М	215,5 ± 11,2	185,9 ± 7,3
Сім'ядолі		
Контроль	59,7 ± 2,1	112,1 ± 5,1
ІОК, 10 <sup>-6</sup> М	87,2 ± 4,3	92,8 ± 4,2
НУК, 10 <sup>-6</sup> М	43,1 ± 2,1	54,7 ± 2,2

ІОК чи НУК при концентраціях 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup>, 10<sup>-5</sup>, 10<sup>-6</sup> М. Усі досліджені концентрації ауксинів гальмували ріст коренів проростків квасолі. За дії найбільш концентрованого розчину ІОК (10<sup>-3</sup> М) корені були потовщені, скорочені і нерозгалужені. При зменшенні концентрації ступінь деформації градієнтно зменшувався. Щодо росту коренів проростків кукурудзи, то ефект усіх концентрацій був подібний. Вплив НУК був дещо слабкішим, але дуже подібним до впливу ІОК.

Інкубація насіння квасолі у розчині з додаванням ІОК (10<sup>-6</sup> М) призводила до формування проростків, в органах яких відбувалися істотні перебудови у балансі ендогенних цитокінінів (табл. 13). Так, у зародковій осі вміст зеатинрибозиду підвищувався майже вчетверо, а вміст дигідрозеатину, навпаки, майже вчетверо знижувався. У сім'ядолях спостерігалася подібна тенденція, проте кількісні зміни вмісту цитокінінів були значно менші (лише на 10–15%).

Слід зазначити, що головна функція сім'ядолей дводольних рослин полягає у постачанні поживних речовин для росту осьових органів, і у 3-х добових проростків вони вже майже вичерпали свій фізіологічний ресурс (Мартин, Нестерова,

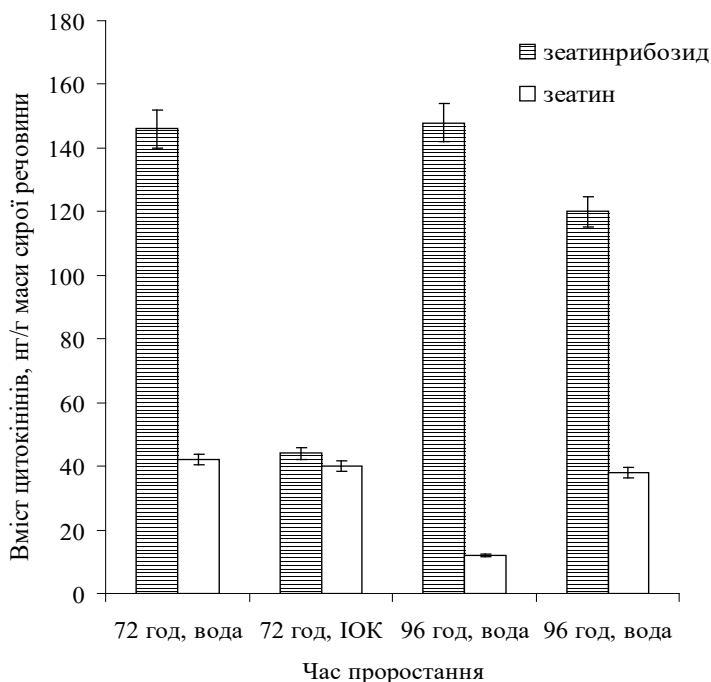


Рис. 25. Вміст цитокінінів у зародкових органах проростків *Zea mays* L. після інкубації на розчині ІОК ( $10^{-6}$  М), нг/г маси сиріої речовини

1989). Вміст ендogenous цитокінінів на 72-у год проростання у сім'ядолях також значно зменшувався, що, вірогідно, пов'язано із загальним зниженням інтенсивності метаболізму гормонів у цьому органі (Веденичева, 1990). Можливо, з цієї причини реакція гормональної системи на дію ІОК у сім'ядолях була значно слабкішою у порівнянні з активно ростучими осьовими органами. Ефект від додавання НУК ( $10^{-6}$  М) в інкубаційний розчин у зародковій осі проростків був подібний до дії ІОК, але дещо м'якший. У сім'ядолях вплив НУК суттєво відрізнявся від такого ІОК, що також можна пояснити вищенаведеними причинами.

У проростках кукурудзи формативний ефект ІОК, як і в проростках квасолі, супроводжувався дисбалансом ендogenous

цитокінінів (рис. 25). Рівень зеатинрибозиду знижувався більш, ніж у тричі, а вміст зеатину залишався без змін. Якщо проростки переносили у середовище без додавання гормону і продовжували інкубувати ще 24 год, змінене співвідношення цитокінінів відносно контролю зберігалось.

Обробка ІОК у проростків квасолі та кукурудзи призводила до швидкого припинення мітотичної активності меристеми коренів і потовщення в зоні розтягування клітин (Генералова та ін., 2001). В осьових органах проростків квасолі при цьому значно зменшувався вміст дигідрозеатину, а у проростках кукурудзи – зеатинрибозиду. Відомо, що в рослинних тканинах існує певний баланс між цитокінінами й ауксинами на рівні біосинтезу та метаболізму. Екзогенні ауксини негативно впливають на біосинтез цитокінінів (Nordström et al., 2004) і, навпаки, нанесення цитокінінів пригнічує біосинтез ауксинів (Jones et al., 2010). Як видно на табл. 13 і рис. 25, надлишок ІОК призводить до зменшення вмісту цілком конкретних форм цитокінінів. Порівняння якісного складу й кількісного вмісту цих гормонів у проростках двох видів рослин, а також їхніх змін при екзогенній дії ІОК свідчить про те, що ці показники, вочевидь, є видоспецифічними характеристиками. Відповідь на додавання ІОК в інкубаційне середовище відрізнялася також в органах проростків квасолі і залежала від їхньої функціональної активності.

Цитокініни й ауксини є ключовими регуляторами найважливіших фізіологічних процесів – органогенезу, ембріогенезу, функціонування меристем пагону й кореня. Їхні співвідношення є вирішальними у формуванні й розвитку всієї рослини. Аналогічні висновки було зроблено при аналізі й узагальненні експериментальних даних багатьох авторів (Swarup et al., 2002; Moubayidin et al., 2009).

Вивчення ультраструктури клітин проростків квасолі й кукурудзи показало, що дія ІОК проявляється в інтенсифікації

процесів вакуолізації цитоплазми шляхом формування численних провакуолей, які надалі починають об'єднуватися (Генералова та ін., 2001). Ці структурні зміни цитоплазми меристематичних клітин можна розглядати як захисну реакцію на гормональний стрес для зменшення вмісту ІОК шляхом дезактивації та депонування у вакуолярному компартменті цитоплазми. Нещодавно було встановлено, що цитокініни здатні регулювати спрямованість потоків переносників ауксинів PIN1 у бік вакуолей, де ці білки розщеплюються гідролітично (Marhavý et al., 2011). Отже, інтенсивне утворення вакуолей за дії екзогенної ІОК може мати значення для підтримки не тільки певного рівня ендогенних ауксинів, але й для негативної регуляції усього шляху сигналіngu цих гормонів. При цьому можна гіпотетично уявити, що функціональне значення підвищення рівня зеатинрибозиду у проростків квасолі або підтримка незмінного рівня зеатину в проростках кукурудзи при інкубації у розчині ауксину полягає саме в активації транспорту білків PIN1 для розщеплення у вакуолях з метою запобігання негативного впливу надлишку гормону. Для отримання доказів такого припущення потрібні подальші дослідження.

Таким чином, формативний ефект ІОК у проростках представників одно- та дводольних рослин супроводжується дисбалансом ендогенних цитокінінів. Можна припустити, що зміни рівнів кожного з досліджених цитокінінів мають диференційоване функціональне значення.

**Абсцизова кислота як регулятор стрес-толерантності рослин.** АБК – гормон, який регулює різноманітні фізіологічні процеси у рослин, зокрема розвиток, спокій і проростання насіння, ріст проростків, утворення бічних коренів, старіння листків (Cutler et al., 2010), а також є головним регулятором адаптації рослин до біотичних й абіотичних стресів (Ye et al., 2012). Вважається, що цей гормон є тригером транскрипційного

репрограмування клітинного метаболізму при адаптації до абіотичних стресів, регулятором метаболізму вуглеводів і ліпідів (Weiner et al., 2010). Транскриптомний аналіз показав, що АБК змінює експресію величезної кількості генів (у арабідопсису їх понад 1300) (Hoth et al., 2002). За дії біотичних стресів рівень ендогенної АБК зростає упродовж 1 год у десятки разів (Hong et al., 2013). Обробка екзогенними розчинами АБК дозволяє підвищити стійкість рослин до несприятливих чинників оточуючого середовища (Хуе-Хуан et al., 2010). Найкраще досліджено механізм участі АБК в адаптації до посухи і засолення (Zhang et al., 2006; Krasensky, Jonak, 2012). АБК стимулює закриття продихів та інгібує їхнє відкриття, зменшуючи таким чином втрати води через транспірацію (Cutler et al., 2010).

Згідно до сучасних поглядів, АБК-опосередковані зовнішні сигнали модулюються взаємодією і конкуренцією з іншими гормональними регуляторами, інтегруючись в єдиний узгоджений гормональний шлях (Klingler et al., 2010; Golldack et al., 2014). Тому дослідження взаємодії АБК з іншими фітогормонами в процесах адаптації є необхідними для розуміння механізму формування стійкості рослин до різноманітних чинників. Були описані взаємозв'язки між сигнальними шляхами АБК та гіберелінів і жасмонатів за дії посухи і засолення (Golldack et al., 2014), подібна інформація щодо цитокінінів відсутня.

Досліджувалася дія АБК на баланс цитокінінів у первинних листках квасолі за умов водного дефіциту. Насіння *Phaseolus vulgaris* сорту Білозерна перед пророщуванням замочували на 3 год у розчині АБК ( $10^{-6}$  М), що сприяло покращенню морфометричних показників у 5-добових проростків за умов водного дефіциту: збільшувалася їхня оводненість, біомаса, площа листків. За дії стресу в листках контрольних рослин рівень усіх зеатинових гормонів знижувався більше, ніж удвічі.

**Таблиця 14. Вміст цитокінінів у первинному листку *Phaseolus vulgaris* за умов водного дефіциту після інкубації насіння на розчині АБК ( $10^{-6}$  М), мкг/г маси сухої речовини**

Варіант досліджу	Цитокінін		
	ZR	Z	ZOG
До припинення поливу (5-та доба)			
Контроль, вода	3,0 ± 0,14	3,2 ± 0,15	2,2 ± 0,11
Контроль, АБК	3,3 ± 0,15	3,4 ± 0,16	3,2 ± 0,12
Після припинення поливу (7-ма доба)			
Контроль, вода	4,2 ± 0,21	4,4 ± 0,20	3,8 ± 0,17
Контроль, АБК	3,9 ± 0,19	4,1 ± 0,20	3,7 ± 0,17
Водний дефіцит, вода	1,7 ± 0,08	1,6 ± 0,07	2,2 ± 0,11
Водний дефіцит, АБК	2,7 ± 0,13	3,1 ± 0,14	3,3 ± 0,12
Після відновлення поливу (14-та доба)			
Контроль, вода	1,2 ± 0,06	1,3 ± 0,05	1,9 ± 0,08
Контроль, АБК	1,3 ± 0,06	2,3 ± 0,09	2,8 ± 0,12
Водний дефіцит, вода	0,8 ± 0,03	0,9 ± 0,04	1,2 ± 0,05
Водний дефіцит, АБК	1,1 ± 0,04	1,6 ± 0,07	1,9 ± 0,09

У листках рослин, що вирости з насіння, яке замочували у розчині АБК, вплив посухи на ендогенні цитокініни був дещо м'якшим: вміст зеатинрибозиду та зеатину знижувався лише на 50%, а зеатин-О-глюкозиду – на 12% (табл. 14). Порушення балансу ендогенних цитокінінів, що спричиняла обробка насіння розчином АБК, зберігалось в зрілих листках контрольних та дослідних рослин на 14-у добу після проростання.

Екзогенні обробки та маніпуляції біосинтезом АБК призводять до загального підвищення посухостійкості рослин (Сао et al., 2013). У мутантів з оверпродукцією АБК або у рослин дикого типу після нанесення екзогенного гормону типовим є зростання оводненості листків (Thompson et al., 2007; Parent et al., 2009), тоді як у трансгенних рослин, дефіцитних за вмістом АБК, ситуація протилежна (Dodd et al., 2009; Parent et al., 2009).



Механізм, який лежить в основі антистресової дії АБК, має складний характер (Tardieu et al., 2010). Гормон контролює активність антиоксидантних ферментів (Jiang, Zhang, 2002), ключових ферментів метаболізму цукрів (Trouverie et al., 2004), протеїнази (Li et al., 2002), регулює активність аквапоринів (Parent et al., 2009), активує експресію значної кількості генів (Matsui et al., 2008).

Відомо, що в процесі формування посухостійкості рослин АБК взаємодіє з такими гормонами, як ауксини та брасиностероїди (Tardieu et al., 2010). Як показано в наших експериментах, АБК також впливає на баланс ендогенних цитокінінів. Вплив гормону мав місце як за нормальних умов, так і за дії водного дефіциту. В останньому випадку проявлялися антистресові властивості АБК, а саме обробка насіння розчином гормону пом'якшувала негативний ефект посухи на вміст як вільних, так і зв'язаних зеатинових форм цитокінінів. Раніше було показано зниження вмісту цитокінінів у проростках кукурудзи в безстресових умовах за дії надфізіологічних концентрацій АБК (Теплова и др., 1990). За останніми даними, АБК пригнічує експресію генів *СКХ* (Werner et al., 2006; Vaseva et al., 2008; Nishiyama et al., 2011), чим пояснюється накопичення ендогенних цитокінінів. Згідно до сучасних поглядів, при адаптації рослин до водного стресу співвідношення АБК/цитокініни змінюється на користь АБК (Ha et al., 2012; El-Showk et al., 2013), що має важливе значення для закриття продихів і перешкодження втрат вологи (Wolters, Jürgens, 2009). При екзогенній обробці насіння розчином АБК гормон надходить у тканини й рівень ендогенної АБК зростає (Васюк та ін., 2005), відповідно співвідношення АБК/цитокініни значно змінюється. Очевидно, при цьому включається механізм зворотного зв'язку, який запобігає надмірному порушенню балансу між двома гормонами, що позитивно відбивається на ростових показниках рослин за умов водного дефіциту. Отже, механізм позитивного впливу АБК на

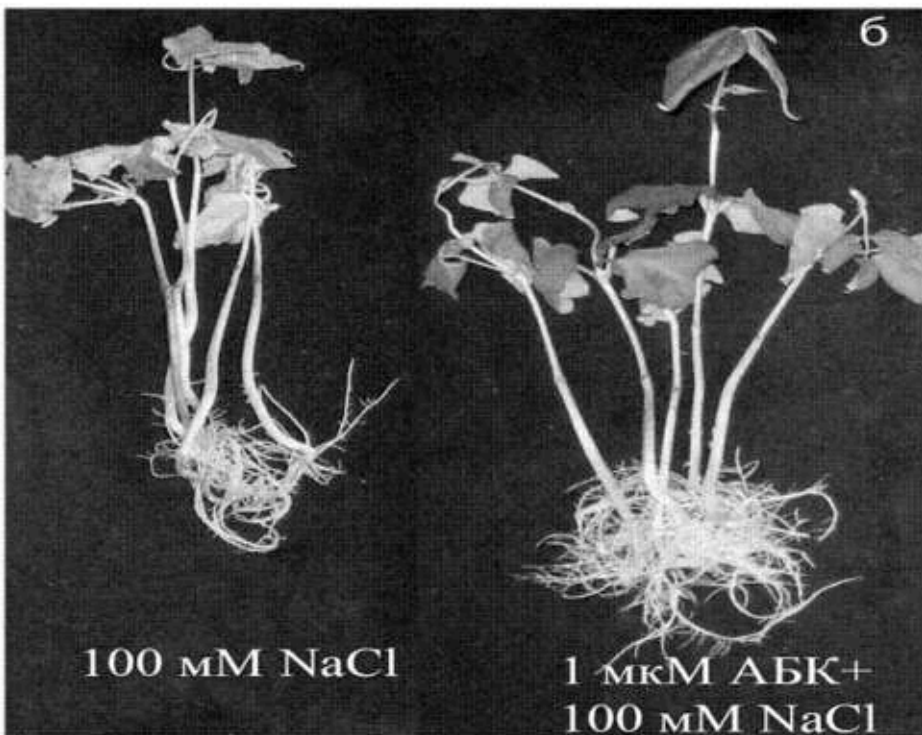


Рис. 26. Зовнішній вигляд рослин *Phaseolus vulgaris* після 6 днів вирощування на середовищі з додаванням 100 мМ NaCl (без обробки коренів та після обробки коренів 1 мкМ АБК)

посухостійкість рослин пов'язаний зі здатністю цього гормону змінювати метаболізм інших гормонів, зокрема цитокинінів.

Слід зазначити пролонгованість ефекту АБК, яка спостерігалася в наших дослідженнях. У розчині АБК замочували сухе насіння, після чого суттєві відмінності у вмісті ендогенних цитокинінів відмічалися на 5-ту добу розвитку рослин, а певний дисбаланс зберігався до 14-ї доби (Мусатенко та ін., 2005).

Ураховуючи те, що екзогенна обробка АБК підвищує кількісні показники врожайності пшениці (Nauyar, Walia, 2004; Vano et al., 2012), застосування цього гормону або регуляторів росту, створених на його основі, для передпосівної обробки

насіння агрокультур є перспективним засобом підвищення посухостійкості й продуктивності агрокультур.

Для вивчення екзогенної дії АБК на адаптацію до сольового стресу рослин з контрастною солестійкістю використовували глікофіт *Phaseolus vulgaris* сорту Білозерна та галофіт *Mesembryanthemum crystallinum*, які вирощували у водній культурі з додаванням NaCl (100 мМ NaCl) та АБК ( $10^{-6}$  М). Обробка коренів квасолі екзогенною АБК (1 мкМ) як в контролі, так і за умов засолення сприяла покращенню життєздатності рослин (рис. 26) і супроводжувалась збільшенням сирової біомаси листків та їхньої оводненості, а також підвищенням вмісту хлорофіла ( $a+b$ ) і каротиноїдів у листках (Шевякова и др., 2013). Це свідчить про позитивну дію екзогенної АБК та її захисну роль у рослин при сольовому стресі.

Покращення морфологічних та біохімічних показників супроводжувалося змінами цитокінінового статусу проростків (табл. 15).

Так, за дії АБК вміст зеатину у листках і коренях у відповідь на сольовий стрес зростав удвічі менше, ніж у рослин, які не обробляли гормоном. Не такими суттєвими, але помітними після обробки АБК були зміни вмісту зеатинрибозиду й ізопентеніладенозину при гіперсалінізації. У варіанті досліду АБК + NaCl рівень зеатину і зеатинрибозиду був майже таким, як у контрольних рослин, приблизно удвічі меншими були зміни вмісту ізопентенільних цитокінінів. Як видно з табл. 16, після експозиції коренів галофільних рослин *M. crystallinum* у розчині АБК порушення балансу вільних цитокінінів листків при засоленні 100 мМ NaCl були майже такими ж, як і без АБК, а при засоленні 300 мМ NaCl – накопичувалися зеатинрибозид й ізопентеніладенозин. При обох концентраціях NaCl рівень зеатин-О-глюкозиду знижувався. В коренях засолення на фоні обробки рослин АБК сприяло зменшенню вмісту ізопентенільних форм цитокінінів. У цілому, реакція

**Таблиця 15. Вміст цитокинінів у рослин *Phaseolus vulgaris* за умов сольового стресу (100 мМ NaCl) та обробки АБК (10<sup>-6</sup> М), нг/г маси сирової речовини**

Варіант досліджу	Цитокинін				
	Z	ZR	iPa	iP	ZOG
Листки					
Контроль	28,2 ± 1,4	102,3 ± 5,1	100,0 ± 5,0	15,7 ± 0,8	2,2 ± 0,1
АБК	34,1 ± 1,6	119,8 ± 5,4	90,7 ± 3,3	13,1 ± 0,4	12,6 ± 0,4
NaCl	207,4 ± 10,4	105,4 ± 5,3	256,6 ± 12,8	18,8 ± 0,9	83,4 ± 4,4
АБК + NaCl	106,2 ± 5,1	72,1 ± 2,8	231,2 ± 9,2	21,5 ± 0,9	81,2 ± 4,4
Корені					
Контроль	4,8 ± 0,2	158,8 ± 5,9	15,8 ± 0,8	22,1 ± 1,1	8,0 ± 0,4
АБК	6,1 ± 0,3	199,8 ± 9,4	10,7 ± 0,3	23,1 ± 1,1	20,4 ± 1,1
NaCl	12,0 ± 0,6	131,3 ± 6,6	261,5 ± 13,1	34,9 ± 1,7	11,6 ± 0,6
АБК + NaCl	5,2 ± 0,3	162,7 ± 7,5	101,2 ± 4,9	19,9 ± 0,6	14,9 ± 0,5

**Таблиця 16. Зміни вмісту цитокинінів у рослин *Mesembryanthemum crystallinum* за умов сольового стресу та обробки АБК (10<sup>-6</sup> М), нг/г маси сирової речовини**

Варіант досліджу	Цитокинін				
	Z	ZR	iPa	iP	ZOG
Листки					
Контроль	16,2 ± 0,7	21,4 ± 1,0	0	0	20,7 ± 1,0
100 мМ NaCl	4,1 ± 0,2	9,8 ± 0,4	0,7 ± 0,03	3,1 ± 0,1	22,6 ± 1,1
300 мМ NaCl	15,8 ± 0,7	13,6 ± 0,7	3,9 ± 0,1	4,3 ± 0,2	25,9 ± 1,2
АБК	24,3 ± 1,1	14,8 ± 0,7	0,3 ± 0,01	1,1 ± 0,05	35,1 ± 1,7
100 мМ NaCl + АБК	6,2 ± 0,3	12,1 ± 0,5	1,2 ± 0,06	1,5 ± 0,06	10,2 ± 0,4
300 мМ NaCl + АБК	19,5 ± 0,8	50,0 ± 1,8	0,3 ± 0,01	9,8 ± 0,4	2,1 ± 0,1
Корені					
Контроль	56,3 ± 2,3	34,6 ± 1,5	1,2 ± 0,04	3,1 ± 0,1	0
100 мМ NaCl	15,1 ± 0,7	6,4 ± 0,3	8,9 ± 0,4	4,9 ± 0,2	13,6 ± 0,6
300 мМ NaCl	36,9 ± 1,7	14,7 ± 0,5	13,2 ± 0,6	7,5 ± 0,3	37,6 ± 1,8
АБК	20,8 ± 1,1	9,2 ± 0,4	2,2 ± 0,1	3,9 ± 0,1	36,2 ± 1,7
100 мМ NaCl + АБК	19,4 ± 0,9	11,8 ± 0,5	0,9 ± 0,04	0,8 ± 0,04	28,6 ± 1,1
300 мМ NaCl + АБК	41,5 ± 1,4	22,3 ± 0,9	1,0 ± 0,04	0,9 ± 0,04	68,6 ± 3,3

**Таблиця 17. Вміст цитокінінів у листках *Mesembryanthemum. crystallinum* за дії 300 мМ NaCl та обробки АБК ( $10^{-6}$  М) і флурідонем ( $1,5 \cdot 10^{-6}$  М), нг/г маси сирої речовини**

Варіант досліджу	Цитокінін				
	Z	ZR	iPa	iP	ZOG
Контроль	44,2 ± 2,0	63,6 ± 2,7	0	4,8 ± 0,2	57,5 ± 2,6
АБК	60,7 ± 2,8	51,6 ± 2,5	19,1 ± 0,9	44,6 ± 2,2	68,3 ± 3,1
Флурідон	22,2 ± 1,0	19,1 ± 0,9	11,2 ± 0,5	5,2 ± 0,2	31,4 ± 1,4
NaCl	31,4 ± 1,5	24,1 ± 1,2	12,7 ± 0,5	7,3 ± 0,3	62,5 ± 3,2
NaCl + АБК	56,1 ± 2,7	92,5 ± 4,4	8,2 ± 0,3	16,2 ± 0,7	0
NaCl + флурідон	39,3 ± 1,8	20,6 ± 0,8	0	0	127,7 ± 6,1

*M. crystallinum* на засолення поживного середовища на фоні впливу АБК протікала дещо інакше, ніж за відсутності гормону.

Для з'ясування механізму участі АБК у формуванні солестійкості галофіта *M. crystallinum* було проведено дослідження ендogenous вмісту цитокінінів за різних концентрацій ендogenous АБК, яку підвищували обробкою  $10^{-6}$  М АБК або зменшували обробкою флурідонем ( $1,5 \cdot 10^{-6}$  М). Маса надземної частини рослин на середовищі з NaCl знизилася в 2,8 рази, а у рослин, оброблених АБК, вона збільшилася в 1,5 рази порівняно з контролем. У рослин, оброблених флурідонем зниження приросту маси надземної частини становило 28% від контролю. Обробка коренів АБК значно стимулювала синтез ізопентенильних форм цитокінінів у листках (табл. 17). За дії флурідону або засолення знижувався рівень зеатинподібних форм. Засолення у рослин, що оброблялися АБК, призводило до підвищення вмісту вільних форм цитокінінів, тоді як зеатин-О-глюкозид був відсутній. Рослини, оброблені флурідонем, реагували на засолення протилежним чином – зменшувався рівень вільних цитокінінів, а вміст зеатин-О-глюкозиду підвищувався більш, ніж удвічі.

Обробка коренів *M. crystallinum* екзогенною АБК і флурідонем практично не впливала на співвідношення концентрацій ендогенних АБК і активних форм цитокінінів ( $\sim 0,016$ ), тоді як при засоленні це співвідношення істотно змінювалось (0,12). Якщо засоленню передувала обробка рослин АБК, зміна співвідношення АБК/цитокініни було не таким значним (0,036), а інгібітор флурідон сприяв його збільшенню (0,068) (Стеценко и др., 2015). Ці результати підтверджують уявлення про певну позитивну роль АБК при водному й сольовому стресах (Ozfidan et al., 2013).

Таким чином, екзогенна АБК спричиняє підвищення толерантності рослин до негативних чинників різної природи (посуха, засолення), при цьому значно покращуються морфологічні показники як стійких, так і менш стійких видів за умов стресу. Механізм позитивного впливу АБК пов'язаний зі зміною цитокінінового статусу рослин і, зокрема, з порушенням співвідношення цитокініни/АБК. Загальною тенденцією було пом'якшення порушень балансу ендогенних цитокінінів за дії стресових факторів у рослин, які оброблялися розчином АБК. Отже, обробка рослин АБК або регуляторами росту, створеними на її основі, може бути використана для підвищення стійкості рослин, підтримання їхнього росту в несприятливих умовах і для підвищення врожайності.

**Антистресовий вплив цитокінінів і фізіологічно активних препаратів з цитокініною активністю.** Яскраво вираженими антистресовими властивостями характеризуються цитокініни та препарати цитокінінової природи. Позитивний ефект від обробки рослин природними або синтетичними цитокінінами спостерігався при абіотичних стресах різної природи – гіпертермії (Мусієнко та ін., 2014), холодовому стресі (Критенко, Титов, 1990), засоленні (Albacete et al., 2014), водному дефіциті (Rulková, Pospíšilová, 2001; Михалків

та ін., 2002). Підвищення вмісту ендogenous цитокінінів у трансгенних рослин з overекспресією *ipt* пом'якшувало негативний вплив посухи в *Agrostis stolonifera* (Xu et al., 2016) та теплового шоку в арабідопсису (Skalák et al., 2016).

В останні роки особливу увагу дослідників привертає можливість використання як антистресових агентів цитокінінових препаратів, створених на основі природної сировини (Stirk, Van Staden, 2010; Sharma et al., 2014). Було показано, що біологічні препарати грибного походження, зокрема компости після вирощування базидіальних грибів, виявляють стимулюючу дію на проростання насіння (Перепелиця та ін., 2001).

Механізм протекторної дії цитокінінів на стійкість рослин пов'язаний з їхньою здатністю підтримувати функціональну активність білків, фотосинтетичного апарату, здійснювати перерозподіл асимілятів, що позитивно позначається на продуктивності рослин за стресових умов (Чернядьєв, 2009). Не виключено, що екзогенна обробка цитокінінами впливає на баланс ендogenous гормонів, покращуючи стійкість рослин, проте даних, які б підтверджували таке припущення, дуже мало (Argueso et al., 2009).

Досліджували зміни статусу ендogenous цитокінінів у первинних листках *Phaseolus vulgaris* у відновний період після дії водного дефіциту та вплив на нього попередньої обробки насіння кінетином ( $10^{-6}$  М) або екстрактом фізіологічно активних речовин (ФАР) (0,1 %), одержаних з компостів після вирощування гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kunt.). Для отримання останніх субстрати (ферментовані лушпиння соняшника або солома пшениці) з міцелієм та часточками базидіом *P. ostreatus*, які залишалися після культивування грибів, подрібнювали до стану гомогенного порошку та висушували, після чого виготовляли водні витяжки з розрахунку 1 г порошку на 1 л води.

**Таблиця 18. Вміст цитокинінів у листках *Phaseolus vulgaris* в репараційний період після дії водного дефіциту, мкг/г сухої речовини**

Цитокинін	Контрольні листки	Листки після дії водного дефіциту		
	Замочування насіння			
	у воді	у воді	у розчині кінетину	у розчині ФАР
Зеатинрибозид	1,00 ± 0,05	0,53 ± 0,01	0,84 ± 0,06	0,37 ± 0,02
Зеатин	1,92 ± 0,04	1,40 ± 0,06	2,10 ± 0,10	0,97 ± 0,03
Зеатин-О-глюкозид	2,87 ± 0,06	2,18 ± 0,04	3,55 ± 0,17	2,24 ± 0,17

Обробка насіння вищезгаданими розчинами сприяла рослині квасолі набагато краще переносити посуху. Були отримані вищі ростові показники порівняно з контролем, їхня оводненість зростала на 35–40% відносно тих рослин, які піддавали посузі без попередньої обробки при пророщуванні. Після створення посухи в період максимальної мітотичної активності клітин ще досить тривалий час (до стадії зрілості) у листках квасолі зберігався дисбаланс гормонів навіть після поновлення поливу. У зрілих листках після проходження ними репараційного періоду спостерігали зниження вмісту цитокинінів порівняно з контролем (табл. 18).

Попередня обробка насіння розчином кінетину призводила до того, що рівень зеатину та зеатинрибозиду в листках наближався до показників контрольних рослин, а порівняно з дослідними був майже у 1,5 рази вищий. Кількість зеатин-О-глюкозиду була підвищеною (табл. 18). Можна припустити, що за рахунок кон'югації відбувалася нейтралізація надлишку цитокиніну. Ефект обробки насіння розчином фізіологічно активних речовин, естрагованих з компосту після вирощування гливи, на вміст ендогенних цитокинінів у листках квасолі був не такий виражений, як ефект кінетину; концентрація зеатину та зеатинрибозиду зменшувалася відносно контрольних та



дослідних листків, а зеатин-О-глюкозиду – не змінювалася. Раніше було показано, що обробка БАП сприяє більш швидкому відновленню фотосинтезу й росту проростків квасолі в репараційний період після водного дефіциту (Rulcová, Pospišilová, 2001). Проте у випадку, коли рослини обробляли синтетичними цитокінінами в середині вегетаційного періоду, ефект цих речовин на відновлення показників транспірації та фотосинтезу після посухи був слабкий або не спостерігався зовсім (Vomáčka, Pospišilová, 2003).

Як показали результати наших досліджень, при попередній обробці насіння розчинами кінетину зменшувався негативний вплив посухи на подальший ріст і розвиток рослин квасолі. Можна припустити, що поліпшення фізіологічних показників у відновний після посухи період пов'язане з підвищенням вмісту ендогенних цитокінінів або збереженням його на незмінному рівні. Застосування синтетичних регуляторів росту для покращення стійкості рослин викликає багато заперечень з точки зору рентабельності та екологічної безпеки. Тому дослідження фізіологічної дії препаратів рослинного походження, безперечно, становить значний інтерес. У наших дослідах вплив екстрактів фізіологічно активних речовин на гормональний статус листків квасолі відрізнявся від дії кінетину. Це пояснюється тим, що внаслідок екстракції з грибного компосту в розчин могли переходити речовини різної природи. Тому в подальшому для отримання найбільшого ефекту таких екстрактів на стійкість рослин до посухи необхідно застосовувати методи екстракції, максимально наближені до тих, які прийняті для цитокінінів.

## ЗАКЛЮЧЕННЯ

Цитокиніни вперше було ідентифіковано як такі, що стимулюють проліферацію рослинних клітин у культурі. В подальшому була визначена участь цих гормонів у регуляції таких складових росту й розвитку рослин, як формування та проростання насіння, функціонування меристем, донорно-акцепторні взаємовідносини, старіння, формування адаптаційного синдрому тощо. Значних успіхів було досягнуто в з'ясуванні молекулярних механізмів дії цитокинінів. Ідентифіковано ферменти, задіяні в їхньому біосинтезі й метаболізмі, мембранні рецептори, гени первинної відповіді та основні елементи сигнальної трансдукції. Численні дослідження із використанням генно-модифікованих рослин показали, що маніпулювання рівнями цитокинінів та цитокиніновими сигналами можна застосовувати для управління розвитком і продуктивністю рослин як за нормальних умов, так і несприятливих факторів. Проте остаточно механізм дії цитокинінів у ростових процесах рослин у нормі та при стресах не з'ясовано, що свідчить про його складність і багатокомпонентність.

Виявлено наявність різних форм цитокинінів у представників різних класів царств грибів і рослин. Повсюдне поширення цитокинінів разом з уніфікованістю їхніх основних структурних елементів свідчить про те, що здатність продукувати ці гормони виникла у грибів і рослин на ранніх етапах еволюції. Наявних даних замало, щоб констатувати функціонування цитокинінів у нижчих організмів як сигнальних молекул і регуляторів росту. Щодо вищих рослин, то таких функцій цитокиніни, вочевидь, набувають вже в судинних спорових. Про це свідчить зіставлення динаміки й акумуляції вільних і зв'язаних форм з інтенсивністю ростових процесів у хвощів та папоротей. У хвощів існує певна специфіка метаболізму, зокрема наявність

кон'югату в значній кількості в спороносних пагонах *Equisetum arvense* на ранніх стадіях розвитку, що можна трактувати як прояв очевидної реліктової цієї життєвої форми в циклі розвитку рослин. Закономірності кількісних і якісних змін пулу цитокінінів у папоротеподібних указують на відповідність функцій цих гормонів у даних рослин таким, що встановлені для вищих квіткових.

Результати аналізу вмісту цитокінінів у багатьох судинних рослин показали, що на всіх досліджених стадіях розвитку їм була притаманна наявність похідних зеатину як у вільній формі (зеатин або дигідрозеатин), так і зв'язаній (зеатинрибозид і зеатин-О-глюкозид). Спектр і рівні ендогенних цитокінінів залежали від стадії розвитку рослини і були тканинспецифічними. Найбільший вміст зеатину й зеатинрибозиду спостерігався в органах у період інтенсивного росту. При переході до стадії зрілості й старіння відбувається зниження їхніх рівнів і накопичення кон'югатів. Не викликає сумніву, що зеатин і зеатинрибозид є активними діючими формами цитокінінів, і саме вони беруть участь у регуляції розвитку. Зіставляючи отримані нами результати з відомостями літератури, можна дійти висновку, що підтримання концентрації активних форм цитокінінів на високому рівні, яке відбувається внаслідок збалансованого функціонування біосинтетичних і метаболічних ферментів, забезпечує перебіг ростових процесів відповідних тканин і органів. Збіг максимумів у динаміці домінуючої форми цитокінінів на тій чи іншій стадії розвитку з інтенсивністю певного процесу, очевидно, вказує на значущість цієї гормональної речовини для регуляції його протікання. Існування гормону в декільках метаболічних формах є тим тонким інструментом, що забезпечує підтримання певної концентрації діючої речовини в необхідному місці та в необхідний час.

Порівняння концентрацій цитокінінів в органах рослин різного систематичного положення показало, що кількісно вони майже завжди превалюють у кореневій системі. Це вказує на розташування в ній локальної ділянки синтезу таких гормонів і на визначальну роль коренів у продукуванні цитокінінових сигналів. Разом із тим, не менш важливою ділянкою біосинтезу цитокінінів є насіння на ранніх стадіях ембріогенезу і, ймовірно, інтеркалярні меристеми стебла у рослин з відповідним типом росту.

Цитокініни є важливими регуляторами реакції рослин на різноманітні впливи оточуючого середовища, які діють через молекулярний механізм сприйняття й трансдукції сигналів. Вплив негативних абіотичних чинників призводить до швидких змін у вмісті та балансі ендogenous цитокінінів, які зберігаються в тканинах досить тривалий час після стресу. У різних рослин за впливу таких факторів, як дефіцит вологи, тепловий шок, засолення, кліностагування спостерігається тенденція до зниження рівнів активних форм цитокінінів і зменшення цитокінінового пулу загалом. Практично в усіх випадках така перебудова відбувається на фоні зростання концентрації ендogenous АБК. Подібну реакцію гормональної системи можна віднести до неспецифічних, оскільки вона відбувається за різних несприятливих умов. Фізіологічне значення її полягає в гальмуванні ростових процесів і переспрямуванні енергетичних і пластичних ресурсів на підтримання клітинних структур, формування адаптаційних пристосувань до стресу і забезпечення виживання організму. Дослідження рослин з різною толерантністю до стресів показало, що стійкі рослини характеризуються більшим вмістом ендogenous цитокінінів за нормальних умов, ніж нестійкі, та значним конститутивним концентраційним переважанням цитокінінів над АБК.

У цілому, аналізуючи літературні та власні результати, можна зробити висновок про те, що співвідношення цитокініни/АБК,

збалансоване із вмістом інших компонентів гормонального комплексу, відіграє більш важливу регуляторну роль, ніж флуктуації рівнів лише цитокінінів на певних стадіях розвитку рослин. Принаймні, припинення росту під час стресових ситуацій або глибина спокою насіння, вочевидь, контролюються цим співвідношенням, оскільки зменшення рівня активних форм цитокінінів відбувається на фоні зростання вмісту АБК. У рослин з високим ступенем фенотипічної пластичності, здатних тривалий час зростати і розмножуватися за несприятливих умов, упродовж вегетації підтримується такий баланс цих фітогормонів, який характерний для стресових ситуацій.

Цілком очевидно існування взаємозв'язку гормонів протилежного напрямку дії (цитокінінів й АБК) у регуляції ростових процесів рослин як в нормі, так і за дії стресових чинників. Підсилюючи вплив одне одного, вони створюють регуляторну інтегративну підсистему в єдиній гормональній системі рослин, в якій здійснюють управління програмами внутрішнього розвитку і регулюють відповіді на зовнішні впливи комплексно, шляхом антагоністичної дії. Представлена концепція цілком узгоджується із сучасними поглядами й підтверджується результатами, отриманими авторами при вивченні впливу екзогенних фітогормонів на ріст і стійкість рослин. При обробці розчинами ІОК, АБК або кінетину відбувалися кількісні перетворення у вмісті ендогенних цитокінінів. Морфологічні та фізіологічні зміни, що спостерігалися при цьому, свідчать про важливість гормонального балансу для реалізації генотипу одно- та дводольних. Виявлене підвищення стрес-толерантності рослин до водного дефіциту і засолення за дії екзогенних гормонів (кінетину й АБК), вірогідно, пов'язане з порушенням такого балансу і як наслідок зменшення негативної дії стресора на вміст ендогенних цитокінінів.

Таким чином, управління вмістом ендогенних цитокінінів, переважно їхніх активних форм – зеатину і зеатинрибозиду, відкриває шляхи для підвищення стрес-толерантності, а отже продуктивності рослин за допомогою екзогенних регуляторів росту абсцизинової чи цитокінінової природи. Найефективною обробка відповідними препаратами має бути на стадіях інтенсивного росту рослин або сухого насіння, а найбільш чутливими органами рослин – ділянки з високою здатністю до біосинтезу цитокінінів і, відповідно, до продукування цитокінінових сигналів.

## ЛІТЕРАТУРА

- Ахиярова Г.Р., Сабиржанова И.Б., Веселов Д.С., Фрике В. Участие гормонов в возобновлении роста побегов пшеницы при кратковременном засолении NaCl // Физиология растений. – 2005. – 52, № 6. – С. 891–896.
- Белынская Е.В., Кондратьева В.В., Кириченко Е.Б. Изменение баланса цитокининов и содержания эфирного масла в онтогенезе мяты // Изв. РАН. Сер. Биол. – 1994. – № 5. – С. 802–806.
- Блюм Я.Б., Красиленко Ю.А., Емец А.И. Влияние фитогормонов на цитоскелет растительной клетки // Физиология растений. – 2012. – 59. – С. 557–573.
- Борзенкова Р.А., Яшков М.Ю., Пьянков В.И. Содержание абсцизовой кислоты и цитокининов у дикорастущих видов с разными типами экологических «стратегий» // Физиология растений. – 2001. – 48, № 2. – С. 229–237.
- Васюк В.А., Генералова В.М., Веденичева Н.П., Мартин Г.Г., Мусатенко Л.І. Ситник К.М. Фізіологічні особливості росту первинного листка *Phaseolus vulgaris* L. в умовах водного дефіциту після інкубації насіння в розчині АБК // Укр. бот. журн. – 2005. – 62, № 5. – С. 632–639.
- Веденичева Н.П., Васюк В.А., Генералова В.Н., Мусатенко Л.І., Ситник К.М. Рост и гормональный комплекс *Phaseolus vulgaris* L. в условиях клиностатирования // Доп. НАН України. – 2002. – № 9. – С. 176–180.
- Веденичева Н.П., Васюк В.А., Генералова В.Н., Мусатенко Л.І. Гормональный комплекс *Sium latifolium* L. в різних екологічних умовах зростання // Укр. бот. журн. – 2004. – 61, № 3. – С. 94–100.
- Веденичева Н.П., Генералова В.Н., Мусатенко Л.І., Ситник К.М. Гормональный комплекс частухи подорожниковой, адаптированной к разным условиям водного режима // Доп. НАН України. – 1995. – № 12. – С.100–102.
- Веденичева Н.П., Мусатенко Л.І., Стеценко Л.А. и др. Влияние засоления на содержание цитокининов, АБК и ИУК в листьях *Mesembryanthemum crystallinum* L. // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2010. – 21, № 3. – С. 30–36.
- Веденичева Н.П., Мусатенко Л.І. Цитокинины в семенах при созревании и прорастании // Физиология и биохимия культур. растений. – 1990. – 22, № 4. – С. 327 – 335.

- Веденичова Н.П., Аль-Маалі Г.А., Бісько Н.А., Косаківська І.В. Продукування фітогормонів цитокинінової природи міцелярною біомасою базидієвих грибів // Физиология растений и генетика. – 2016. – 48, № 6. – С. 508–518.
- Веденичова Н.П., Васюк В.А., Генералова В.М., Мусатенко Л.І., Черевченко Т.М. Фітогормональний комплекс рослин *Singonium* в умовах герметичної камери // Інтродукція рослин. – 2003. – № 5. – С. 77–80.
- Веденичова Н.П., Васюк В.А., Косаківська І.В. Сезонна динаміка ендогенних цитокинінів і гіберелінів у чорноморської макрководорості *Cystoseira barbata* (Phaeophyceae) // Укр. бот. журн. – 2015. – 72, № 3. – С. 261–266.
- Веденичова Н.П., Косаківська І.В. Ендогенні цитокиніни водної папороті *Salvinia natans* (Salviniaceae) // Укр. бот. журн. – 2016. – 72, № 3. – С. 277–282.
- Веденичова Н.П., Мусатенко Л.І. Локалізація і динаміка цитокинінів в період формування репродуктивних органів *Zea mays* L. // Укр. бот. журн. – 2008. – 65, № 6. – С. 896–902.
- Веденичова Н.П., Ситник К.М. Локалізація і динаміка цитокинінів у різних частинах рослин *Equisetum arvense* L. // Доп. НАН України. – 2013. – № 11. – С. 150–156.
- Веденичова Н.П. Динаміка ендогенних цитокинінів у проростаючому насінні та проростках квасолі // Укр. бот. журн. – 1990. – 47, № 6. – С. 83–89.
- Веденичова Н.П. Цитокиніни в органах *Phaseolus vulgaris* L. у репродуктивний період розвитку // Укр. бот. журн. – 2007. – 64, № 3. – С. 364–371.
- Веденічева Н.П., Васюк В.А., Генералова В.М., Мусатенко Л.І. Вплив фізіологічно активних речовин на відновлення фітогормонального комплексу в первинному листку квасолі після водного стресу // Физиология и биохимия культур. растений. – 2005. – 37, № 3. – С. 249–253.
- Веденічева Н.П., Мусатенко Л.І. Вміст цитокинінів в листках квасолі при адаптації до посухи // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2006. – 9, № 2. – С. 31–35.
- Веселов А.П., Лобов В.П., Олюнина Л.Н. Изменение в содержании фитогормонов в ответной реакции растений при тепловом шоке и в



- период его последствия // Физиология растений. – 1998. – 45, № 6. – С. 709–715.
- Веселова С.В., Фархутдинов Р.Г., Веселов Д.С., Кудоярова Г.Р. Роль цитокининов в регуляции устьичной проводимости проростков пшеницы при быстром локальном изменении температуры // Физиология растений. – 2006. – 53, № 6. – С. 857–862.
- Веселов Д.С., Сабиржанова И., Ахиярова Г. и др. Роль гормонов в быстром ростовом ответе растений пшеницы на осмотический и холодовой шок // Физиология растений. – 2002. – 49, № 4. – С. 572–576.
- Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р., Мустафина А.Р., Вальке Р. Динамика содержания эндогенных цитокининов в побегах трансгенных и нетрансформированных проростков табака под влиянием теплового шока // Физиология растений. – 1995. – 42, № 5. – С. 694–697.
- Высоцкая Л.Б., Черкозьянова А.В., Веселов С.Ю., Кудоярова Г.Р. Роль ауксинов и цитокининов в формировании боковых корней у растений пшеницы с частично удаленными первичными корнями // Физиология растений. – 2007. – 54, № 3. – С. 455–460.
- Генералова В.М., Веденичева Н.П., Мартин Г.Г. Дослідження формативного ефекту ІОК в проростках одно- та дводольних рослин // Фізіологія рослин в Україні на межі тисячоліть. – Київ: Логос, 2001. – Т. 2. – С. 292–295.
- Григорюк И.А., Нижник Т.П., Курчий Б.А. Регуляция содержания абсцизовой кислоты в листьях картофеля и помидоров полистимулином К, полистимулином А-6 и эмистимом в условиях засухи // Физиология и биохимия культур. растений. – 2001. – 33, № 2. – С. 241–244.
- Гусаковская М.А., Блинцов А.Н. Пространственно-временное распределение содержания зеатина и зеатинрибозид в период активности яйцеклетки в завязях растений с половым и апомиктическим типами репродукции // Физиология растений. – 2004. – 51, № 2. – С. 249–255.
- Гусаковская М.А., Блинцов А.Н. Пространственное и временное распределение свободной и связанной форм АБК в завязях пшеницы и одуванчика в период активности яйцеклетки // Физиология растений. – 2006. – 53, № 3. – С. 397–401.
- Далецкая Т.И., Зембднер Г. Действие жасмоновой кислоты на прорастание покоящихся и непокоящихся семян // Физиология растений. – 1989. – 36, № 2. – С. 1118–1123.

- Ефремов Д.П., Каравайко Н.Н., Кулаева О.Н. Влияние теплового шока на рост проростков ячменя и содержание в них фитогормонов // Докл. РАН. – 1992. – 323, № 2. – С. 362–365.
- Жук О.І., Григорюк І.П., Роїк Л.В. Відновлення ростових процесів у проростках озимої пшениці після дегідратації та обробки насіння синтетичними цитокінінами // Физиология и биохимия культур растений. – 2001. – 33, № 3. – С. 263–267.
- Заїменко Н.В., Черевченко Т.М. Біохімічні зміни у листках тропічних видів орхідних в умовах герметичної камери // Інтродукція рослин. – 1999. – № 2. – С. 88–92.
- Иванова А.Б., Анцыгина Л.Л., Ярин А.Ю. Современные аспекты изучения фитогормонов. Цитокинины // Цитология. – 2001. – 43, № 6. – С. 537–543.
- Калинина Н.А., Драгвоз И.В., Яворская В.К. Фитогормональный баланс корней кукурузы на фоне действия хлоридного засоления и 6-БАП // Ученые зап. Таврич. нац. ун-та. – 2001. – 53, № 14, ч. 1. – С. 84–87.
- Калінін Ф.Л. Застосування регуляторів росту в сільському господарстві – Київ: Урожай, 1989. – 168 с.
- Кордюм Є.Л. Фенотипічна пластичність і епігенетика // Укр. бот. журн. – 2012. – 69, № 2. – С. 163–177.
- Косаківська І.В., Войтенко Л.В., Ліхнівський Р.В., Устінова А.Ю. Вплив температурних стресів на вміст цитокінінів у проростках *Triticum aestivum* L. сорту Ятрань 60 // Физиология растений и генетика. – 2015. – 47, № 4. – С. 296–303.
- Косаківська І.В., Войтенко Л.В., Устінова А.Ю., Ліхнівський Р.В. Вплив температурного режиму на вміст абсцизової кислоти в проростках *Triticum aestivum* L. сорту Ятрань 60 // Физиология растений и генетика. – 2014. – 46, № 5. – С. 420–427.
- Косаківська І.В., Яроцька К.М., Войтенко Л.В., Бабенко Л.М. Вплив гіпертермії на склад і вміст цитокінінів, фотосинтетичних пігментів різних за ознакою термостійкості сортів *Glycine max* (L.) Merr. // Физиология растений и генетика. – 2016. – 48, № 1. – С. 56–64.
- Косаківська І.В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. – Київ: Сталь, 2003. – 192 с.
- Косогова Т.М. Активность эндогенных цитокининов в проростках тритикале, выращенных из семян, подвергнутых действию

- неблагоприятных факторов // Физиологические основы ростовых процессов. – М., 1986. – С. 85–88.
- Котова Л.М., Котов А.А., Кара А.Н. Изменение баланса фитогормонов в стеблях и корнях гороха после декапитации проростков // Физиология растений. – 2004. – 51, № 1. – С. 121–125.
- Критенко С.П., Титов А.Ф. Влияние абсцизовой кислоты и цитокинина на биосинтез белка при холодовой и тепловой адаптации растений // Физиология растений. – 1990. – 37, № 1. – С. 126–132.
- Кудоярова Г.Р., Веселов С.Ю., Усманов И.Ю. Гормональная регуляция соотношения биомассы побег/корень при стрессе // Журн. общ. биологии. – 1999. – 60, № 6. – С. 633–641.
- Кулаева О.Н., Кузнецов В.В. Новейшие достижения и перспективы в области изучения цитокининов // Физиология растений. – 2002. – 49, № 4. – С. 626–640.
- Кулаева О.Н., Прокопцева О.С. Новейшие достижения в изучении механизмов действия фитогормонов // Биохимия. – 2004. – 69, № 3. – С. 293–310.
- Кулаева О.Н. Цитокинины, их структура и функции. – М.: Наука, 1973. – 264 с.
- Куприянова Е. В., Лось Д. А., Кузнецов В. В., Кулаева О. Н. Возможное участие цианобактерий в формировании гормональной системы растений // Физиология растений. – 2014. – 61, № 2. – С. 170–176.
- Лялин О.О., Лукьянова С.А. Влияние кинетина и АБК на параметры корневой эксудации // Физиология растений. – 1993. – 40, № 3. – С. 406–413.
- Мартин Г.Г., Нестерова А.Н. Закономірності проростання насіння квасолі // Укр. бот. журн. – 1989. – 46, № 3. – С. 47–51.
- Меркис А.И. Гравитация в процессах роста растений. – М.: Наука, 1990. – 189 с.
- Михалків Л.М., Коць С.Я., Кірізій Д.А. та ін. Регуляція процесів азотфіксації та фотосинтезу в люцерни препаратами цитокінінової і ауксинової природи за різного водозабезпечення // Физиология и биохимия культур. растений. – 2002. – 34, № 4. – С. 317–325.
- Моргун В.В., Яворська В.К., Драгозов І.В. Проблема регуляторів росту у світі та її вирішення в Україні // Физиология и биохимия культур. растений. – 2002. – 34, № 5. – С. 371–376.

- Москалева О.В., Каравайко Н.Н. Динамика эндогенных фитогормонов в развивающихся проростках кукурузы // Физиология растений. – 1990. – 37, № 6. – С.1113–1120.
- Муромцев Г.С., Чкаников Д.И., Кулаева О.Н., Гамбург К.З. Основы химической регуляции роста и продуктивности растений. – М.: Агропромиздат, 1987. – 383 с.
- Мусатенко Л.І., Генералова В.М., Васюк В.А. та ін. Гормональний комплекс первинного листка квасолі за умов водного дефіциту та обробки насіння абсцизовою кислотою // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2005. – 6, № 1. – С. 38–44.
- Мусієнко М.М., Жук В.В., Бацманова Л.М. Протектрона роль цитокініну за дії теплового стресу на рослини пшениці // Укр. бот. журн. – 2014. – 71, № 2. – С. 244–249.
- Палладіна Т.О., Куриленко І.М., Ключко С.В. та ін. Стимулюючий ефект метіуру на ріст та солестійкість паростків кукурудзи // Доп. НАН України. – 2001. – № 6. – С. 177–180.
- Перепелиця Л.О., Нестерова А.Н., Мусатенко Л.І. Дія метаболітів грибів на проростання насіння // Физиология и биохимия культур. растений. – 2001. – 33, № 1. – С. 64–67.
- Полевой В.В. Фитогормоны. – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. – 248 с.
- Пономаренко С.П. Регуляторы роста растений. – Киев, 2003. – 319 с.
- Романов Г.А. Как цитокинины действуют на клетку // Физиология растений. – 2009. – 56, № 2. – С. 295–319.
- Сабинин Д.А. Физиология развития растений. – М.: Изд-во АН СССР, 1963. – 321 с.
- Сарват М., Кузнецов В.В., Кулаева О.Н. Повышение устойчивости проростков пшеницы под влиянием картолина-2 к тепловому шоку // Докл. акад. с.-х. наук России. – 1993. – № 1. – С. 9–12.
- Ситник К.М., Мусатенко Л.І., Мартин Г.Г. та ін. Клітинний ріст і фітогормональний комплекс первинного листка *Phaseolus vulgaris* L. // Укр. бот. журн. – 2002. – 59, № 3. – С. 239–246.
- Стеценко Л.А., Веденичева Н.П., Лихневский Р.В., Кузнецов Вл.В. Влияние абсцизовой кислоты и флуридона на содержание фитогормонов, полиаминов и уровень окислительного стресса в растениях *Mesembryanthemum crystallinum* L. при засолении // Изв. РАН. Сер. Биол. – 2015. – № 2. – С. 134–144.

- Сытник К.М., Кордюм Е.Л., Недуха Е.М., Сидоренко П.Г., Фомичева В.М. Растительная клетка при изменении геофизических факторов. – Киев: Наук. думка, 1984. – 136 с.
- Творус Е.К., Балина Н.В., Лобанова Т.А. и др. Защитное действие картолина на растения ячменя при засухе // Физиология растений. – 1987. – 34, № 5. – С. 1006–1011.
- Теплова И.Р., Кудоярова Г.Р., Никитина В.С. Изменение гормонального баланса этиолированных проростков кукурузы под действием экзогенных гормонов // Иммуноферментный анализ регуляторов роста растений. Применение в физиологии растений и экологии. – Уфа: Изд-во БНЦ УрО АН СССР, 1990. – С. 78–82.
- Титов А.Ф., Таланова В.В. Устойчивость растений и фитогормоны. – Петрозаводск: Карельск. НЦ РАН, 2009. – 206 с.
- Уэринг Ф.Ф. Физиология клубнеобразования и роль фитогормонов // Гормональная регуляция онтогенеза растений. – М.: Наука, 1984. – С. 55–70.
- Фархутдинов Р.Г., Теплова И.Р., Митриченко А.Н. и др. Влияние высокой температуры воздуха на содержание абсцизовой кислоты и цитокининов и водный обмен проростков пшеницы // Изв. РАН. Сер. Биол. – 2003. – № 2. – С. 195–200.
- Хамнер К., Тукей Г. Сущность процессов роста растений и действия на них регуляторов // Регуляторы роста растений в сельском хозяйстве. – М.: Изд-во иностр. лит., 1958. – 387 с.
- Холодный Н.Г. Фитогормоны. Очерки по физиологии гормональных явлений в растительном организме. – Киев: Изд-во АН УССР, 1939. – 265 с.
- Чайлахян М.Х., Хрянин В.Н. Пол растений и его гормональная регуляция. – М.: Наука, 1982. – 173 с.
- Черевченко Т.М., Ситнянська Н.П., Мартин Г.Г. Структурно-функціональна організація тканин листка при довготривалому вирощуванні тропічних і субтропічних рослин в гермооб'ємі // Інтродукція рослин. – 2003. – № 3. – С. 49–54.
- Чернядьев И.И. Протекторное действие цитокининов на фотосинтетический аппарат и продуктивность растений при стрессе (обзор) // Прикл. биохимия и микробиология. – 2009. – 45, № 4. – С. 389–402.
- Чуйкова Н.Б., Лихолат Т.В. Активность цитокининов в проростках овса, выращенных из семян, подвергнутых действию неблагоприятных

- факторов // Вопросы регуляции ростовых процессов у растений. – М.: Наука, 1988. – С. 46–52.
- Шевякова Н.И., Мусатенко Л.И., Стеценко Л.А., Веденичева Н.П., Войтенко Л.В., Сытник К.М., Кузнецов Вл.В. Регуляция абсцизовой кислотой содержания полиаминов и пролина в растениях фасоли при солевом стрессе // Физиология растений. – 2013. – 60, № 2. – С. 194–204.
- Яворська В.К., Драговоз І.В., Крючкова Л.О. та ін. Регулятори росту на основі природної сировини та їх застосування в рослинництві. – Київ: Логос, 2006. – 176 с.
- Aarrouf J., Schoëvaert D., Maldiney R., Perbal G. Changes in hormonal balance and meristematic activity in primary root tips on the slowly rotating clinostat and their effect on the development of the rapeseed root system // *Physiol. Plant.* – 1999. – 105. – P. 708–718.
- Abul Y., Menéndez V., Gómez-Campo C. et al. Occurrence of plant growth regulators in *Psilotum nudum* // *J. Plant Physiol.* – 2010. – 167. – P. 1211–1213.
- Acharya B.R., Assman S.M. Hormone interactions in stomatal function // *Plant Mol. Biol.* – 2009. – 69. – P. 451–562.
- Albacete A., Cantero-Navarro E., Balibrea M.E. et al. Hormonal and metabolic regulation of tomato fruit sink activity and yield under salinity // *J. Exp. Bot.* – 2014. – 65(20). – P. 6081–6095.
- Albacete A., Ghanem M.E., Dodd I.C., Pérez-Alfocea F. Principal component analysis of hormone profiling data suggests an important role for cytokinins in regulating senescence of salinised tomato // *Plant Signal. and Behavior.* – 2010. – 5. – P. 44–46.
- Albacete A., Ghanem M.E., Martínez-Andújar C. et al. Hormonal changes in relation to biomass partitioning and shoot growth impairment in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants // *J. Exp. Bot.* – 2008. – 59(15). – P. 4119–4131.
- Aloni R., Aloni E., Langhans M., Ullrich C.I. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: Regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism // *Ann. Bot.* – 2006. – 97. – P. 883–893.
- Aloni R. The induction of vascular tissues by auxin and cytokinin / *Plant hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular biology* / Ed. Davies P.J. – The Netherlands, Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1995. – P. 531–546.

- Alvarez S., Marsh E.L., Schroeder S.G., Schachtman D.P. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought // *Plant Cell Environ.* – 2008. – 31. – P. 325–340.
- Ananieva K., Ananiev E.D. Interaction between methyl ester of jasmonic acid and benzyladenine during the growth of excised greening cotyledons // *Bulg. J. Plant Physiol.* – 2000. – 26(1–2). – P. 48–57.
- Anantharaman V., Iyer L.M., Aravind L. Comparative genomics of protists: new insights into the evolution of eukaryotic signal transduction and gene regulation. // *Ann. Rev. Microbiol.* – 2007. – 61. – P. 453–475.
- Anjard C., Loomis W.F. Cytokinins induce sporulation in *Dictyostelium* // *Development.* – 2008. – 135. – P. 819–827.
- Argueso C.T., Ferreira F.J., Epple P. et al. Two-component elements mediate interactions between cytokinin and salicylic acid in plant immunity // *PLoS Genet.* – 2012. – 8(1). – P. 1002448.
- Argueso C.T., Ferreira F.J., Kieber J.J. Environmental perception avenues: the interaction of cytokinin and environmental response pathways // *Plant, Cell, Environ.* – 2009. – 32(9). – P. 1147–1160.
- Argueso C.T., Raines T., Kieber J. J. Cytokinin signalling and transcriptional networks // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2010. – 13. – P. 533–539.
- Argyros R.D., Mathews D.E., Chiang Y.H. et al. Type B response regulators of *Arabidopsis* play key roles in cytokinin signaling and plant development // *Plant Cell.* – 2008. – 20. – P. 2102–2116.
- Ariizumi T., Shinozaki Y., Ezura H. Genes that influence yield in tomato // *Breeding Science.* – 2013. – 63. – P. 3–13.
- Aronne G., De Micco V., Ariaudo P., De Pascale S. The effect of uni-axial clinostat rotation on germination and root anatomy of *Phaseolus vulgaris* L. // *Plant Biosystems – An Int. J. Dealing with all Aspects of Plant Biology.* – 2003. – 137(2). – P. 155.
- Arthur G.D., Aremu A.O., Moyo M. et al. Growth-promoting effects of a seaweed concentrate at various pH and water hardness conditions // *South Afr. J. Sci.* – 2013. – 109(11/12). – C. 1–6.
- Arthur G.D., Stirk W.A., Novák O. et al. Occurrence of nutrients and plant hormones (cytokinin and IAA) in the water fern *Salvinia molesta* during growth and composting // *Environ. Exp. Bot.* – 2007. – 61(2). – P. 137–144.
- Ashikari M., Sakakibara H., Lin S. et al. Cytokinin oxidase regulates rice grain production // *Science.* – 2005. – 309. – P. 741–745.

- Åstot C., Doležal K., Nordström A. et al. An alternative cytokinin biosynthesis pathway // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2000. – 97. – P. 14778–14783.
- Atanasova L., Pissurska M., Stoyanov I. Cytokinins and growth responses of maize and pea plants to salt stress // Bulg. J. Plant Physiol – 1996. – 22(1). – P. 22–31.
- Babenko L., Kozeko L., Sytnik K., Musatenko L. Effect of jasmonic acid on the protein-synthesizing activity of seeds with different types of dormancy // Biologia. – 1997. – 3. – P. 51–64.
- Babenko L.M., Kosakivska I.V., Skaterna T.D. Jasmonic acid: role in biotechnology and the regulation of plants biochemical processes // Biotechnol. Acta. – 2015. – 8. – P. 36–51.
- Bae E., Bingman C.A., Bitto E. et al. Crystal structure of *Arabidopsis thaliana* cytokinin dehydrogenase // Proteins. – 2008. – 70. – P. 303–306.
- Bainbridge K., Sorefan K., Ward S., Leyser O. Hormonally controlled expression of the Arabidopsis MAX4 shoot branching regulatory gene // Plant J. – 2005. – 44. – P. 569–580.
- Bajgus A., Piotrowska-Niczyporuk A. Interactive effect of brassinosteroids and cytokinins on growth, chlorophyll, monosaccharide and protein content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) // Plant Physiol. Biochem. – 2014. – 80. – P. 176–183.
- Balibrea Lara M.E., Gonzalez Garcia M.C., Fatima T. et al. Extracellular invertase is an essential component of cytokinin-mediated delay of senescence // Plant Cell. – 2004. – 16. – P. 1276–1287.
- Bangerth F., Li Ch.-J., Gruber J. Mutual interaction of auxin and cytokinins in regulating correlative dominance // Plant Growth Regul. – 2000. – 32 (2–3). – P. 205–2117.
- Bano A., Dorfling K., Bettin D., Hahn H. Abscisic acid and cytokinins as possible root-to-shoot signals in xilem sap of rice plants in drying soil // Aust. J. Plant Physiol. – 1993. – 20(1). – P. 109–115.
- Bano A., Ullah F., Nosheen A. Role of abscisic acid and drought stress on the activities of antioxidant enzymes in wheat // Plant, Soil and Environment. – 2012. – 58. – P. 181–185.
- Bartrina I., Otto E., Strnad M. et al. Cytokinin regulates the activity of reproductive meristems, flower organ size, ovule formation, and thus seed yield in *Arabidopsis thaliana* // The Plant Cell. – 2011. – 23. – P. 69–80.



- Bassil N.V., Mok D.W., Mok, M.C. Partial purification of a *cis-trans*-isomerase of zeatin from immature seed of *Phaseolus vulgaris* L. // *Plant Physiol.* – 1993. – 102. – P. 867–872.
- Bencivenga S., Simonini S., Benková E., Colombo L. The transcription factors BEL1 and SPL are required for cytokinin and auxin signaling during ovule development in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* – 2012. – 24. – P. 2886–2897.
- Ben Salah I., Albacete A., Messedi D. et al. Hormonal responses of nodulated *Medicago ciliaris* lines differing in salt tolerance // *Environ. Exp. Bot.* – 2013. – 86. – P. 35–43.
- Berestetzky V., Dathe W., Daletskaya T. et al. G. Jasmonic acid in seed dormancy of *Acer tataricum* // *Biochem. Physiol. Pflanzen.* – 1991. – 187(1). – P. 13–19.
- Berjak P., Farrant J.M., Mycock D.J., Pammenter N.W. Recalcitrant (homoiohydrous) seeds: the enigma of their desiccation – sensitivity // *Seeds Sci. and Technol.* – 1990. – 18(2). – P. 297–310.
- Bernier G., Corbesier L., Perilleux C. The flowering processes: on the track of controlling factors in *Sinapis alba* // *Физиология растений.* – 2002. – 49(3). – С. 445–450.
- Bernier G., Kinet J.-M., Sachs R.M. The physiology of flowering. – Boca Raton (FL): CRC Press, 1981, vol. 2. – 231 p.
- Bernier G. My favourite flowering image: the role of cytokinin as a flowering signal // *J. Exp. Bot.* – 2013. – 64(18). – P. 5795–5799.
- Bewley J.D. Seed germination and dormancy // *Plant Cell.* – 1997. – 9. – P. 1055–1066.
- Bhargava A., Clabaugh I., To J.P. et al. Identification of cytokinin-responsive genes using microarray meta-analysis and RNA-Seq in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2013. – 162. – P. 272–294.
- Bielach A., Podlešáková K., Marhavý P. et al. Spatiotemporal regulation of lateral root organogenesis in *Arabidopsis* by cytokinin // *Plant Cell.* – 2012. – 24. – P. 3967–3981.
- Bilyeu K.D., Laskey J.G., Morris R.O. Dynamics of expression and distribution of cytokinin oxidase/dehydrogenase in developing maize kernels // *Plant Growth Regul.* – 2003. – 39(3). – P. 195–203.
- Bishopp A., Help H., El-Showk S. et al. A mutually inhibitory interaction between auxin and cytokinin specifies vascular pattern in roots // *Curr. Biol.* – 2011a. – 21(11). – P. 917–26.

- Bishopp A., Lehesranta S., Vatén A. et al. Phloem-transported cytokinin regulates polar auxin transport and maintains vascular pattern in the root meristem // *Curr. Biol.* – 2011b. – 21(11). – P. 927–932.
- Böttcher C., Boss P.K., Davies C. Increase in cytokinin levels during ripening in developing *Vitis vinifera* cv. Shiraz Berries // *Amer. J. Enol. Vitic.* – 2013. – 64. – P. 527–531.
- Brandstatter I., Kieber J.J. Two genes with similarity to bacterial response regulators are rapidly and specifically induced by cytokinin in *Arabidopsis* // *Plant Cell.* – 1998. – 10. – P. 1009–1020.
- Brault M., Caiveau O., Pédrón J. et al. Detection of membrane-bound cytokinin-binding proteins in *Arabidopsis thaliana* cells // *Europ. J. Biochem.* – 1999. – 260. – P. 512–519.
- Breeze E., Harrison E., McHattie S. et al. High-resolution temporal profiling of transcripts during *Arabidopsis* leaf senescence reveals a distinct chronology of processes and regulation // *Plant Cell.* – 2011. – 23. – P. 873–94.
- Brenner W.G., Ramireddy E., Heyl A., Schmülling T. Gene regulation by cytokinin in *Arabidopsis* // *Front. Plant Sci.* – 2012. – 3. – P. 8.
- Brenner W.G., Romanov G.A., Kollmer I. et al. Immediate-early and delayed cytokinin response genes of *Arabidopsis thaliana* identified by genome-wide expression profiling reveal novel cytokinin-sensitive processes and suggest cytokinin action through transcriptional cascades // *Plant J.* – 2005. – 44. – P. 314–333.
- Brovko F.A., Vasil'eva S.V., Lushnikova A.L. et al. Cytokinin-binding protein (70 kDa) from etioplasts and amyloplasts of etiolated maize seedlings and chloroplasts of green plants and its putative function // *J. Exp. Bot.* – 2010. – 61. – P. 3461–3474.
- Brugière N., Humbert S., Rizzo N. et al. A member of the maize isopentenyl transferase gene family, *Zea mays* isopentenyl transferase 2 (*ZmIPT2*), encodes a cytokinin biosynthetic enzyme expressed during kernel development // *Plant Mol. Biol.* – 2008. – 67. – P. 215–229.
- Brugière N., Jiao Sh., Hantke S. et al. Cytokinin oxidase gene expression in maize is localized to the vasculature, and is induced by cytokinins, abscisic acid and abiotic stress // *Plant Physiol.* – 2003. – 132(3). – P. 1228–1240.
- Brzebohatý B., Moore I., Kristoffersen P. et al. Release of active cytokinin by a beta-glucosidase localized to the maize root meristem // *Science.* – 1993. – 262. – P. 1051–1054.

- Burkhanova E.A., Mikulovich T.P., Kudryakova N.V. et al. Heat shock pre-treatment enhances the response of *Arabidopsis thaliana* leaves and *Cucurbita pepo* cotyledons to benzyladenin // Plant Growth Regul. – 2001. – 33. – P. 195–198.
- Bürkle L., Cedzich A., Dopke C. et al. Transport of cytokinins mediated by purine transporters of the PUP family expressed in phloem, hydathodes, and pollen of *Arabidopsis* // Plant J. – 2003. – 34. – P. 13–26.
- Caesar K., Thamm A.M.K., Witthöft J. et al. Evidence for the localization of the *Arabidopsis* cytokinin receptors AHK3 and AHK4 in the endoplasmic reticulum // J. Exp. Bot. – 2011. – 62. – P. 5571–5580.
- Campbell W.F., Strickland D.T., Naegle E. et al. Microscopic confirmation of ethylene involvement of reproductive failure of wheat grown on MIR // ASGBS Annual Meeting Abstracts. – 1998. – P. 147.
- Cao M., Liu X., Zhang Y. et al. An ABA-mimicking ligand that reduces water loss and promotes drought resistance in plants // Cell Res. – 2013. – 23(8). – P. 1043–1054.
- Cary A., Liu W., Howell S. Cytokinin action is coupled to ethylene in its effects on the inhibition of root and hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* seedlings // Plant Physiol. – 1995. – 106. – P. 1075–1082.
- Casati S., Ottria R., Baldoli E. et al. Effects of cytokinins, cytokinin ribosides and their analogs on the viability of normal and neoplastic human cells // Anticancer Res. – 2011. – 31. – P. 3401–3406.
- Castiglioni S., Casati S., Ottria R. et al. N6-isopentenyladenosine and its analogue N6-benzyladenosine induce cell cycle arrest and apoptosis in bladder carcinoma T24 cells // Anti-Cancer Agents in Med. Chemistry. – 2013. – 13. – P. 672–678.
- Castillo G., Torrecillas A., Nogueiras C. et al. Simultaneous quantification of phytohormones in fermentation extracts of *Botryodiplodia theobromae* by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2014. – 30. – P. 1937–1946.
- Cedzich A., Stransky H., Schulz B., Frommer W. B. Characterization of cytokinin and adenine transport in *Arabidopsis* cell cultures // Plant Physiol. – 2008. – 148. – P. 1857–1867.
- Chae H.S., Faure F., Kieber J.J. The eto1, eto2, and eto3 mutations and cytokinin treatment increase ethylene biosynthesis in *Arabidopsis* by increasing the stability of ACS protein // The Plant Cell. – 2003. – 15. – P. 545–559.

- Chakrabarti N., Mukherji S. Alleviation of NaCl stress by pretreatment with phytohormones in *Vigna radiata* // Biol. Plantarum. – 2003. – 46(4). – P. 589–594.
- Chanclud E., Kisiala A., Emery N.R.J. et al. Cytokinin production by the rice blast fungus is a pivotal requirement for full virulence. – PLOS Pathog. – 2016. – 12: e1005457.
- Chanclud E., Morel J.-B. Plant hormones: a fungal point of view // Mol. Plant Pathol. – 2016. – 17 (8). – P. 1289–1297.
- Chatfield S.P., Stirnberg P., Forde B.G., Leyser O. The hormonal regulation of axillary bud growth in *Arabidopsis* // The Plant J. – 2000. – 24. – P. 159–169.
- Chen C.-M. Biosynthesis and enzymic regulation of the interconversion of cytokinins // Metabolism and molecular activities of cytokinins / Eds J. Guern, C. Peaud-Lennel. – Heidelberg; New York: Springer-Verlag, 1981. – P. 34–43.
- Cheng C.-Y., Mathews D.E., Eric Schaller G., Kieber J.J. Cytokinin-dependent specification of the functional megaspore in the *Arabidopsis* female gametophyte // Plant J. – 2013. – 73. – P. 929–940.
- Cheng X., Ruyter-Spira C., Bouwmeester H. The interaction between strigolactones and other plant hormones in the regulation of plant development // Front Plant Sci. – 2013. – 4. – P. 199–216.
- Chen S.Y., Read P.E. Micropropagation of leatherleaf fern (*Rumohra adiantiformis*) Read // Proc. Fla. State Hortt. – 1983. – 96. – P. 266–269.
- Chiang Y.-H., Zubo Y.O., Tapken W. et al. The GATA transcription factors GNC and CGA1 positively regulate chloroplast development, growth, and division in *Arabidopsis* // Plant Physiol. – 2012. – 160. – P. 332–348.
- Chia S.-G.E., Raghavan V. Abscisic acid effect on spore germination and protonemal growth in the fern, *Mohria caffrorum* // New Phytol. – 1982. – 92. – P. 31–37.
- Chickarmane V.S., Gordon S.P., Tarr P.T. et al. Cytokinin signaling as a positional cue for patterning the apical-basal axis of the growing *Arabidopsis* shoot meristem // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2012. – 109. – P. 4002–4007.
- Chin H.F., Hor Y.L., Mohd Lassim M.B. Identification of recalcitrant seeds // Seeds Sci. and Technol. – 1984. – 12(2). – P. 429–436.
- Choi J., Choi D., Lee S. et al. Cytokinins and plant immunity: old foes or new friends? // Trends Plant Sci. – 2011. – 16. – P. 388–394.
- Chow B., McCourt P. Hormone signalling from a developmental context // J. Exp. Bot. – 2004. – 55. – P. 247–251.

- Ciaglia E., Pisanti S., Picardi P. et al. N6-isopentenyladenosine, an endogenous isoprenoid end product, directly affects cytotoxic and regulatory functions of human NK cells through FDPS modulation // *J. Leukocyte Biol.* – 2013. – 94. – P. 1207–1219.
- Clifford R.E., Offler C.E., Patrik J.W. Injection of growth regulators into seeds growing in situ on plants of *Phaseolus vulgaris* with a double-fruit sink system // *Can. J. Bot.* – 1987. – 65(3). – P. 612–615.
- Coenen C., Lomax T.L. Auxin-cytokinin interaction in higher plants: Old problems and new tools // *Trends Plant Sci.* – 1997. – 2. – P. 351–356.
- Colombo F., Falvella F.S., De Cecco L. et al. Pharmacogenomics and analogues of the antitumour agent N6-isopentenyladenosine // *Int. J. Cancer.* – 2009. – 124. – P. 2179–2185.
- Corbesier L., Prinsen E., Jacquard A. et al. Cytokinin levels in leaves, leaf exudate and shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana* during floral transition // *J. Exp. Bot.* – 2003. – 54. – P. 2511–2517.
- Crafts C.B., Miller C.O. Detection and identification of cytokinins produced by mycorrhizal fungi // *Plant Physiol.* – 1974. – 54(4). – P. 586–588.
- Craigie J. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture // *J. Appl. Phycol.* – 2011. – 23. – P. 371–393.
- Crouch I.J., Van Staden J. Effect of seaweed concentrate on the establishment and yield of greenhouse tomato plants // *J. Appl. Phycol.* – 1992. – 4. – P. 291–296.
- Cui X., Luan Sh. A new wave of hormone research: crosstalk mechanisms // *Mol. Plant.* – 2012. – doi: 10.1093/mp/sss090.
- Cutler S.R., Rodriguez P.L., Finkelstein R.R., Abrams S.R. Abscisic acid: emergence of a core signaling network // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2010. – 61. – P. 651–679.
- D'Agostino I., Deruère J., Kieber J.J. Characterization of the response of the *Arabidopsis ARR* gene family to cytokinin // *Plant Physiol.* – 2000. – 124. – P. 1706–1717.
- D'Aloia M., Bonhomme D., Bouché F. et al. Cytokinin promotes flowering of *Arabidopsis* via transcriptional activation of the FT paralogue TSF // *Plant J.* – 2011. – 65(6). – P. 972–979.
- Davey J.E., Van Staden J. Cytokinin activity in *Lupinus albus*. V. translocation and metabolism of 8-<sup>14</sup>C-zeatin applied to the xylem of fruiting plants // *Physiol. Plant.* – 1981. – 51(1). – P. 45–48.

- Debi B.R., Taketa S., Ichii M. Cytokinin inhibits lateral root initiation but stimulates lateral root elongation in rice (*Oryza sativa*) // J. Plant Physiol. – 2005. – 162. – P. 507–515.
- Dekhuijzen H.M. The occurrence of free and bound cytokinins in clubroots and Plasmodiophora brassicae infected turnip tissue cultures // Physiol. Plant. – 1980. – 49. – P. 169–176.
- Dello Ioio R., Galinha C., Fletcher A.G. et al. A PHABULOSA/cytokinin feedback loop controls root growth in Arabidopsis // Curr. Biol. – 2012. – 22. – P. 1699–1704.
- Dello Ioio R., Linhares F., Scacchi E. et al. Cytokinins determine Arabidopsis root-meristem size by controlling cell differentiation // Curr. Biol. – 2007. – 17(8). – P. 678–682.
- Dello Ioio R., Nakamura K., Moubayidin L. et al. A genetic framework for the control of cell division and differentiation in the root meristem // Science. – 2008. – 322. – P. 1380–1384.
- Deng Y., Dong H., Mu J. et al. Arabidopsis histidine kinase CKI1 acts upstream of HISTIDINE PHOSPHOTRANSFER PROTEINS TO REGULATE female gametophyte development and vegetative growth // Plant Cell. – 2010. – 22. – P. 1232–1248.
- De Nys R., Jameson P.E., Chin N. et al. The cytokinins as endogenous growth regulators in *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Ag. (*Phaeophyceae*) // Bot. Mar. – 1990. – 33. – P. 467–475.
- Dermastia M., Ravnikar M., Vilhar B., Kovač M. Increased level of cytokinin ribosides in jasmonic acid-treated potato (*Solanum tuberosum*) stem node cultures // Physiol. Plant. – 1994. – 92(2). – P. 241–246.
- Dettmer J., Elo A., Helariutta Y. Hormone interactions during vascular development // Plant Mol. Biol. – 2009. – 69. – P. 347–360.
- De Vries J., Fisher A.M., Roettger M. et al. Cytokinin-induced promotion of root meristem size in the fern *Azolla* supports a shoot-like origin of euphyllophyte roots // New Phytologist. – 2016. – 209. – P. 705–720.
- Dewitte W., Chiappetta A., Azmi A. et al. Dynamics of cytokinins in apical shoot meristem of a day-neutral tobacco during floral transition and flower formation // Plant Physiol. – 1999. – 119. – P. 111–121.
- Dielen V., Lecouvet V., Dupont S., Kinet J.-M. *In vitro* control of floral transition in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.), the model for autonomously flowering plants, using the late flowering *uniflora* mutant // J. Exp. Bot. – 2001. – 52. – P. 715–723.

- Dietrich J.T., Kaminek M., Blavins D.G. et al. Changes in cytokinins and cytokinin oxidase activity in developing maize kernels and the effect of exogenous cytokinins on kernel development // *Plant Physiol. Biochem.* – 1995. – 33. – P. 327–336.
- Dixon S.C., Martin R.C., Mok M.C. et al. Zeatin glycosylation enzymes in *Phaseolus*. Isolation of O-glucosyltransferase from *P. lunatus* and comparison to O-xylosyltransferase from *P. vulgaris* // *Plant Physiol.* – 1989. – 90. – P. 1316–1321.
- Dobrá J., Černý M., Štorchová H. et al. et al. The impact of heat stress targeting on the hormonal and transcriptomic response in *Arabidopsis* // *Plant Sci.* – 2015. – 231. – P. 52–61.
- Dodd I.C., Beveridge C.A. Xylem-borne cytokinins: still in search of a role? // *J. Exp. Bot.* – 2006. – 57(1). – P. 1–4.
- Dodd I.C., Theobald J.C., Richer S.K., Davies W.J. Partial phenotypic reversion of ABA-deficient flacca tomato (*Solanum lycopersicum*) scions by a wild-type rootstock: normalizing shoot ethylene relations promotes leaf area but does not diminish whole plant transpiration rate // *J. Exp. Bot.* – 2009. – 60. – P. 4029–4039.
- Dorchin N., Hoffman J.H., Stirk W.A. et al. Sexually dimorphic gall structures correspond to differential phytohormone contents in male and female wasp larvae // *Physiol Entomol.* – 2009. – 34. – P. 359–369.
- Dortay H., Mehnert N., Burkle L., Schmülling T., Heyl A. Analysis of protein interactions within the cytokinin-signaling pathway of *Arabidopsis thaliana* // *FEBS J.* – 2006. – 273. – P. 4631–4644.
- Drenichev M.S., Oslovsky V.E., Mikhailov S.N. Cytokinin nucleosides – natural compounds with a unique spectrum of biological activities // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2016. – 16(23). – P. 2562–2576.
- Dua I.S., Jandaik C.L. Cytokinins in two cultivated edible mushrooms // *Sci. Horticul.* – 1979. – 10. – P. 301–304.
- Duan B., Yang Y., Lu J. et al. Interaction between water deficit, ABA and provenances in *Picea asperata* // *J. Exp. Bot.* – 2007. – 58(11). – P. 3025–3036.
- Du L., Jiao F., Chu J., Chen M., Wu P. The two-component signal system in rice (*Oryza sativa* L.): A genome-wide study of cytokinin signal perception and transduction // *Genomics.* – 2007. – 89. – P. 697–707.

- Dun E.A., de Saint Germain A., Rameau C., Beveridge C.A. Antagonistic action of strigolactone and cytokinin in bud outgrowth control // *Plant Physiol.* – 2012. – 158. – P. 487–498.
- Eckardt N.A. A new classic of cytokinin research: cytokinin-deficient *Arabidopsis* plants provide new insight into cytokinin biology // *Plant Cell.* – 2003. – 15. – P. 2489–2492.
- Efroni I., Han S.-K., Kim J. et al. Regulation of leaf maturation by chromatin-mediated modulation of cytokinin responses // *Dev. Cell.* – 2013. – 24. – P. 438–445.
- Eklöf S., Åstot C., Blackwell J. et al. Auxin–cytokinin interactions in transgenic tobacco // *Plant Cell Physiol.* – 1997. – 38. – P. 225–235.
- Eklöf S., Åstot C., Sitbon F. et al. Transgenic tobacco plants co-expressing *Agrobacterium iaa* and *ipt* genes have wild-type hormone levels but display both auxin- and cytokinin-overexpressing phenotypes // *Plant J.* – 2000. – 23. – P. 279–284.
- El-Showk S., Raili Ruonala R., Helariutta Y. Crossing paths: cytokinin signalling and crosstalk // *Development.* – 2013. – 140. – P. 1373–1383.
- Emery N., Atkins C. CKs and seed development // *Handbook of seed science and technology* / Ed. A.S. Basra. – Binghamton; New York: The Haworth Press, 2006. – P. 63–93.
- Emery R.J., Ma Q., Atkins C.A. The forms and sources of cytokinins in developing white lupine seeds and fruits // *Plant Physiol.* – 2000. – 123(4). – P. 1593–604.
- Entsch B., Letham D.S. Enzymic glycosylation of the cytokinin, 6-benzylaminopurine // *Plant Sci. Lett.* – 1979. – 14. – P. 205–212.
- Entsch B., Parker C.W., Letham D.S. An enzyme from lupin seeds forming alanine derivatives of cytokinins // *Phytochemistry.* – 1983. – 22. – P. 375–381.
- Eyidogan F., Oz M.T., Yucel M., Oktem H.A. Signal transduction of phytohormones under abiotic stresses // *Phytohormones and abiotic stress tolerance in plants* / Ed. N.A. Khan. – Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2012. – P. 1–48.
- Faiss M., Zalubilova J., Strnad M., Schmölling T. Conditional transgenic expression of the *ipt* gene indicates a function for cytokinins in paracrine signaling in whole tobacco plants // *Plant J.* – 1997. – 12. – P. 401–415.



- Farkhutdinov R.G., Kudoyarova G.R., Veselov S.U., Valke R. // Influence of temperature increase on evapotranspiration rate and cytokinin content in wheat seedlings // *Biol. Plant.* – 1997. – 39(2). – P. 289–291.
- Farrant J.M., Berjak P., Cutting J. G. M., Pammenter N. W. The role of plant growth regulators in the development and germination of the desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of *Avicennia marina* // *Seed Sci. Res.* – 1993. – 3. – P. 55–63.
- Featonby-Smith B.C., Van Staden J. Identification and seasonal variation of endogenous cytokinins in *Eckonia maxima* (Osbeck) Papenf. // *Bot. Mar.* – 1984. – 27. – 527–531.
- Ferguson B. J., Beveridge C. A. Roles for auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching // *Plant Physiol.* – 2009. – 149. – P. 1929–1944.
- Fleishon S., Shani E., Ori N., Weiss D. Negative reciprocal interactions between gibberellin and cytokinin in tomato // *New Phytol.* – 2011. – 190(3). – P. 609–617.
- Francis D. A commentary on the G<sub>2</sub>/M transition of the plant cell cycle // *Annu. Bot.* – 2011. – 107. – P. 1065–1070.
- Frébort I., Kowalska M., Hluska T., Frébortová J., Galuszka P. Evolution of cytokinin biosynthesis and degradation // *J. Exp. Bot.* – 2011. – 62(8). – P. 2431–2452.
- Frébortová J., Fraaije M.W., Galuszka P. et al. Catalytic reaction of cytokinin dehydrogenase: preference for quinones as electron acceptors // *Biochem. J.* – 2004. – 380. – P. 121–130.
- Frébortová J., Novák O., Frébort I., Jorda R. Degradation of cytokinins by maize cytokinin dehydrogenase is mediated by free radicals generated by enzymatic oxidation of natural benzoxazinones // *Plant J.* – 2010. – 61. – P. 467–481.
- Fricke W, Akhiyarova G, Veselov D, Kudoyarova G. Rapid and tissue-specific changes in ABA and in growth rate response to salinity in barley leaves // *J. Exp. Bot.* – 2004. – 55. – P. 1115–1123.
- Frugier F., Kosuta S., Murray J.D. et al. Cytokinin: secret agent of symbiosis // *Trends Plant Sci.* – 2008. – 13(3). – P. 115–120.
- Fuchs Y., Lieberman M. Effects of kinetin, IAA and gibberellin on ethylene production, and their interactions in growth of seedlings // *Plant Physiol.* – 1968. – 43. – P. 2029–2036.

- Fukuda A., Tanaka Y. Effect of ABA, auxin and gibberellin on the expression of genes for vacuolar H<sup>+</sup>-inorganic pyrophosphatase, H<sup>+</sup>-ATPase subunit A, and Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter in barley // *Plant Physiol. Biochem.* – 2006. – P. 351–358.
- Fusseder A., Ziegler P., Peters W., Beck E. Turnover of O-glucosides of dihydrozeatin and dihydrozeatin-9-riboside during the cell growth cycle of photoautotrophic cell suspension cultures of *Chenopodium rubrum* // *Bot. Acta.* – 1989. – 102. – P. 335–340.
- Gabali S.A.M., Bagga A.K., Bhardwaj S.N. Hormonal basis of grain growth and development in wheat // *Ind. J. Plant Physiol.* – 1986. – 29(4). – P. 387–396.
- Gajdosova S., Spichal L., Kaminek M. et al. Distribution, biological activities, metabolism and the conceivable function of *cis*-Zeatin-type cytokinins in plants // *J. Exp. Bot.* – 2011. – 62. – P. 2827–2840.
- Gallegos G.L., Odom W.R., Guikema J.A. Effect of microgravity on stress ethylene and carbon dioxide production in sweet clover (*Melilotus alba* L.) // *J. Grav. Physiol.* – 1995. – 2. – P. 155–156.
- Galuszka P., Frébort I., Šebela M. et al. Cytokinin oxidase or dehydrogenase? Mechanism of cytokinin degradation in cereals // *Europ. J. Biochem.* – 2001. – 268. – P. 450–461.
- Galuszka P., Popelková H., Werner T. et al. Biochemical characterization of cytokinin oxidases/dehydrogenases from *Arabidopsis thaliana* expressed in *Nicotiana tabacum* L. // *J. Plant Growth Regul.* – 2007. – 26. – P. 255–267.
- Gan S.S., Amasino R.M. Cytokinins in plant senescence: From spray and pray to clone and play // *Bioassays.* – 1996. – 18. – P. 557–565.
- Gao F., Ayele B.T. Functional genomics of seed dormancy in wheat: advances and prospects // *Front Plant Sci.* – 2014. – 5. – P. 458–467.
- Garay-Arroyo A., Sanchez M. D. L. P., Garcia-Ponce B. et al. Hormone symphony during root growth and development // *Developmental Dynamics.* – 2012. – 241. – P. 1867–1885.
- Gaudinová A., Dobrev P.I., Šolcová B. et al. The involvement of cytokinin oxidase/dehydrogenase and zeatin reductase in regulation of cytokinin levels in pea (*Pisum sativum* L.) leaves // *J. Plant Growth Regul.* – 2005. – 24. – P. 188–200.
- Ghanem M.E., Albacete A., Smigocki A.C. Root-synthesized cytokinins improve shoot growth and fruit yield in salinized tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants // *J. Exp. Bot.* – 2011. – 62. – P. 125–140.

- Gillissen B., Burkle L., Andre B. et al. A new family of high-affinity transporters for adenine, cytosine, and purine derivatives in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2000. – 12. – P. 291–300.
- Giron D., Frago E., Glevarec G., Pieterse C.M.J., Dicke M. Cytokinins as key regulators in plant – microbe – insect interactions: connecting plant growth and defence // *Functional Ecology*. – 2013. doi. 10.1111/1365-2435.12042.
- Golan A., Tepper M., Soudry E. et al. Cytokinin, acting through ethylene, restores gravitropism to *Arabidopsis* seedlings grown under red light // *Plant Physiol*. – 1996. – 112(3). – P. 901–904.
- Golldack D., Li C., Mohan H., Probst N. Tolerance to drought and salt stress in plants: Unraveling the signaling networks // *Frontiers in Plant Science*. – 2014. – 5. – P. 151. doi:10.3389/fpls.2014.00151.
- Greenboim-Wainberg Y., Maymon I., Borochoy R. et al. Cross talk between gibberellin and cytokinin: the *Arabidopsis* GA-response inhibitor spindly plays a positive role in cytokinin signaling // *Plant Cell*. – 2005. – 17. – P. 92–102.
- Greer G.K., Dietrich V.F., De Vol J.A., Rebert A. The effects of exogenous cytokinin on the morphology and gender expression of *Osmunda regalis* gametophytes // *Amer. Fern J.* – 2012. – 102. – P. 32–46.
- Guan C., Wang X., Feng J. et al. Cytokinin antagonizes abscisic acid-mediated inhibition of cotyledon greening by promoting the degradation of abscisic acid insensitive5 protein in *Arabidopsis* // *Plant Physiol*. – 2014. – 164(3). – P. 1515–1526.
- Guha A.K., Banerjee A.B. Effect of indole-3-acetic acid and kinetin on submerged growth of *Agaricus bisporus* // *Acta Microbiol. Pol.* – 1974. – 6. – P. 133–134.
- Guivarc'h A., Rembur J., Goetz M. et al. Local expression of the ipt gene in transgenic tobacco (*Nicotiana tabacum* L. cv. SR1) axillary buds establishes a role for cytokinins in tuberization and sink formation // *J. Exp. Bot.* – 2002. – 53(10). – P. 621–629.
- Gupta S. Rashotte A.M. Down-stream components of cytokinin signaling and the role of cytokinin throughout the plant // *Plant Cell Reports*. – 2012. – 31. – P. 801–812.
- Gu R., Fu J., Guo S. et al. Comparative expression and phylogenetic analysis of maize cytokinin dehydrogenase/oxidase (CKX) gene family // *J. Plant Growth Regul.* – 2010. – 29. – P. 428–440.

- Hammerton R.D., Nicander B., Tillberg E. Identification of some major cytokinins in *Phaseolus vulgaris* and their distribution // *Physiol. Plant.* – 1996. – 96(1). – P. 77–84.
- Hanny N., Dorfling K. Effects of chilling on physiological responses and changes in hormone levels in two *Euphorbia pulcherrima* varieties with different chilling tolerance // *J. Plant. Physiol.* – 1991. – 138. – P. 734–740.
- Hansen C.E., Wenzler H., Meins F. Jr. Concentration gradient of *trans*-zeatin riboside and *trans*-zeatin in the maize stem // *Plant Physiol.* – 1984. – 75. – P. 959–963.
- Han Y., Zhang C., Yang H., Jiao Y. Cytokinin pathway mediates *APETALA1* function in the establishment of determinate floral meristems in *Arabidopsis* // *PNAS.* – 2014. – 111(18). – P. 6840–6845.
- Hare P.D., Van Staden J. Cytokinin oxidase: biochemical features and physiological significance // *Physiol. Plant.* – 1994. – 91. – P. 128–136.
- Harrington J.F. Seed storage and longevity // *Seed Biology.* – London; New York: Acad. Press, 1972. – P. 145–245.
- Ha S., Vankova R., Yamaguchi-Shinozaki K. et al. Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses // *Trends Plant Sci.* – 2012. – 17(3). – P. 172–179.
- Havlova M., Dobrev P.I., Motyka V. et al. The role of cytokinins in responses to water deficit in tobacco plants over-expressing *trans*-zeatin O-glucosyltransferase gene under 35S or SAG12 promoters // *Plant Cell Environ.* – 2008. – 31. – P. 341–353.
- Heckmann A.B., Sandal N., Bek A.S. et al. Cytokinin induction of root nodule primordia in *Lotus japonicus* is regulated by a mechanism operating in the root cortex // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2011. – 24(11). – P. 1385–1395.
- Heyl A., Riefler M., Romanov G.A., Sch Müller T. Properties, functions and evolution of cytokinin receptors // *Europ. J. Cell Biol.* – 2012. – 91. – P. 246–256.
- Higuchi M., Pischke M.S., Mahonen A.P. et al. *In planta* functions of the *Arabidopsis* receptor family // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – 10. – P. 8821–8826.
- Hilaire E., Peterson B.V., Guikema J.A., Brown C.S. Clinorotation affects morphology and ethylene production in soybean seedlings// *Plant Cell Physiol.* – 1996. – 37(7). – P. 929–934.

- Hinsch J., Vrabka J., Oeser B. et al. *De novo* biosynthesis of cytokinins in the biotrophic fungus *Claviceps purpurea* // Environ. Microbiol. – 2015. – 17. – P. 2935–2951.
- Hirose N., Takei K., Kuroha T. et al. Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation // J. Exp. Bot. – 2008. – 59(1). – P. 75–83.
- Hocart C.H., Letham D.S. Biosynthesis of cytokinins in germinating seeds of *Zea mays* // J. Exp. Bot. – 1990. – 41(12). – P. 1525–1528.
- Hocart C.H., Letham D.S., Parker C.W. Metabolism and translocation of exogenous zeatin riboside in germinating seeds and seedlings of *Zea mays* // J. Exp. Bot. – 1990. – 41(12). – P. 1517–1524.
- Holland M.A. Occam's Razor applied to hormonology: are cytokinins produced by plants? // Plant Physiol. – 1997. – 115(3). – P. 865–868.
- Hong J.H., Seah S.W., Xu J. The root of ABA action in environmental stress response // Plant Cell Rep. – 2013. – 32(7). – P. 971–983.
- Horgan J.M., Waering P.F. Cytokinins and the growth responses of seedlings of *Betula pendula* Roth, and *Acer pseudoplatanus* L. to nitrogen and phosphorus deficiency // J. Exp. Bot. – 1980. – 31. – P. 525–532.
- Hothorn M., Dabi T., Chory J. Structural basis for cytokinin recognition by *Arabidopsis thaliana* histidine kinase 4 // Nature Chem. Biol. – 2011. – 7. – P. 766–768.
- Hoth S., Morgante M., Sanchez J.P. et al. Genome-wide gene expression profiling in *Arabidopsis thaliana* reveals new targets of abscisic acid and largely impaired gene regulation in the *abi1-1* mutant // J. Cell Sci. – 2002. – 115. – P. 4891–4900.
- Hou B., Lim E.K., Higgins G.S., Bowles D.J. *N*-Glucosylation of cytokinins by glycosyltransferases of *Arabidopsis thaliana* // J. Biol. Chem. – 2004. – 279. – P. 47822–47832.
- Huang S., Cerny R.E., Qi Y.L. et al. Transgenic studies on the involvement of cytokinin and gibberellin in male development // Plant Physiol. – 2003. – 131. – P. 1270–1282.
- Hudson D., Guevara D.R., Hand A.J. et al. Rice cytokinin GATA transcription factor1 regulates chloroplast development and plant architecture // Plant Physiol. – 2013. – 162(1). – P. 132–144.

- Hussain A., Krischke M., Roitsch T., Hasnain S. Rapid determination of cytokinins and auxin in cyanobacteria // *Curr. Microbiol.* – 2010. – 61. – P. 361–369.
- Hussein M.M., Nadia H., EL-Gereadly M., EL-Desuki M. Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.) // *J. Appl. Sci. Res.* – 2006. – 2(9). – P. 598–604.
- Hutchison C.E., Li J., Argueso C., Gonzalez M. et al. The *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins are redundant positive regulators of cytokinin signalling // *The Plant Cell.* – 2006. – 18. – P. 3073–3087.
- Hutton M.J., Van Staden J. Cytokinins in germinating seeds of *Phaseolus vulgaris* L. II. Transpot and metabolism of 8[<sup>14</sup>C]-zeatin applied to the radicle // *Ann. Bot.* – 1982. – 49(5). – P. 693–700.
- Hwang I., Sakakibara H. Cytokinin biosynthesis and perception // *Physiol. Plantarum.* – 2006. – 126(4). – P. 528–538.
- Hwang I., Sheen J., Müller B. Cytokinin signaling networks // *Ann. Rev. Plant Biol.* – 2012. – 63. – P. 353–380.
- Incoll L.D., Jewer P.C. Cytokinins and stomata // *Stomatal Function* / Eds E. Zeiger, G.D. Farquhar, I.R. Cowan. – Stanford: Stanford Univ. Press, 1987. – P. 281–292.
- Inoue T., Higuchi M., Hashimoto Y. et al. Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from *Arabidopsis* // *Nature.* – 2001. – 409. – P. 1060–1063.
- Ishida K., Yamashino T., Yokoyama A., Mizuno T. Three Type-B Response Regulators, ARR1, ARR10 and ARR12, play essential but redundant roles in cytokinin signal transduction throughout the life cycle of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Physiol.* – 2008. – 49. – P. 47–57.
- Jackson M.B. Are plant hormones involved in root to shoot communication? // *Adv. Bot. Res.* – 1993. – 19. – P. 103–187.
- Jacqmar A., Detry N., Dewitte W. et al. *In situ* localization of cytokinins in the shoot apical meristem of *Sinapis alba* at floral transition // *Planta.* – 2002. – 214. – P. 970–973.
- Jameson P.E. Cytokinin metabolism and compartmentation // *Cytokinins: Chemistry, Activity, and Function* / Eds D.W.S. Mok, M.C. Mok. – Boca Raton (FL): CRC Press, 1994. – P. 113–128.
- Jasinski S., Piazza P., Craft J. et al. KNOX action in *Arabidopsis* is mediated by coordinate regulation of cytokinin and gibberellin activities // *Curr. Biol.* – 2005. – 15. – P. 1560–1565.

- Javid M.G., Soroosshzadeh A., Moradi F. et al. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants // *Austral. J. Crop Plants.* – 2011. – 5(6). – P. 726–734.
- Jeon J., Kim J. Arabidopsis response Regulator1 and Arabidopsis histidine phosphotransfer Protein2 (AHP2), AHP3, and AHP5 function in cold signaling // *Plant Physiol.* – 2013. – 161. – P. 408–424.
- Jeon J., Kim N.Y., Kim S. et al. A subset of cytokinin two-component signaling system plays a role in cold temperature stress response in Arabidopsis // *J. Biol. Chem.* – 2010. – 285. – P. 23371–23386.
- Jiang C.J., Shimono M., Sugano S. et al. Cytokinins act synergistically with salicylic acid to activate defense gene expression in rice // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2013. – 26(3). – P. 287–296.
- Jiang M.Y., Zhang J.H. Role of abscisic acid in water stress induced antioxidant defense in leaves of maize seedlings // *Free Radical Res.* – 2002. – 36. – P. 1001–1015.
- Jin Y., Ni D.A., Ruan Y.L. Posttranslational elevation of cell wall invertase activity by silencing its inhibitor in tomato delays leaf senescence and increases seed weight and fruit hexose level // *Plant Cell.* – 2009. – 21. – P. 2072–2089.
- Jones B., Gunneras S. A., Petersson S. V. et al. Cytokinin regulation of auxin synthesis in *Arabidopsis* involves a homeostatic feedback loop regulated via auxin and cytokinin signal transduction // *Plant Cell.* – 2010. – 22. – P. 2956–2969.
- Kakimoto T. Identification of plant cytokinin biosynthetic enzymes as dimethylallyl diphosphate:ATP/ADP isopentenyltransferases // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – 42. – P. 677–685.
- Kalosek P., Buchtova D., Balla J. Cytokinin and polar auxin in axillary re bud // *Acta Univ. Agricult. Silvicult. Mendel. Brunensis.* – 2010. – 58. – P. 79–88.
- Kamada-Nobusada T., Makita N., Kojima M., Sakakibara H. Nitrogen-dependent regulation of de novo cytokinin biosynthesis in rice: The role of glutamine metabolism as an additional signal // *Plant Cell Physiol.* – 2013. – 54(11). – P. 1881–1893.
- Kamada-Nobusada T., Sakakibara H. Molecular basis for cytokinin biosynthesis // *Phytochemistry.* – 2009. – 70(4). – P. 444–449.
- Kamínek M., Trčková M., Fox J.E., Gaudinová A. Comparison of cytokinin-binding proteins from wheat and oat grains // *Physiol. Plant.* – 2003. – 117. – P. 453–458.

- Kasahara H., Takei K., Ueda N. et al. Distinct isoprenoid origins of *cis*- and *trans*-zeatin biosyntheses in *Arabidopsis* // *J. Biol. Chem.* – 2004. – 279. – P. 14049–14054.
- Kenrick P., Crane P.R. The origin and early evolution of plants on land // *Nature.* – 1997. – 389. – P. 33–39.
- Kiba T., Kudo T., Kojima M., Sakakibara H. Hormonal control of nitrogen acquisition: roles of auxin, abscisic acid, and cytokinin // *J. Exp. Bot.* – 2011. – 62. – P. 1399–1409.
- Kieber J.J., Schaller G.E. Cytokinins // *The Arabidopsis Book.* – 2014. – 11:e0168. doi:10.1199/tab.0168.
- Kim H.J., Ryu H., Hong S.H. et al. Cytokinin-mediated control of leaf longevity by AHK3 through phosphorylation of ARR2 in *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – 103. – P. 814–819.
- Kinet J.-M., Lejeune P., Bernier G. Shoot-root interaction during floral transition: a possible role for cytokinins // *Environ. Exp. Bot.* – 1993. – 33. – P. 459–469.
- Kinoshita-Tsujimura K., Kakimoto T. Cytokinin receptors in sporophytes are essential for male and female functions in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Signal Behav.* – 2011. – 6. – P. 66–71.
- Klingler J.P., Batelli G., Zhu J.-K. ABA receptors: the START of a new paradigm in phytohormone signalling // *J. Exp. Bot.* – 2010. – 61(12). – P. 3199–3210.
- Kohli A., Sreenivasulu N., Lakshmanan P., Kumar P.P. The phytohormone crosstalk paradigm takes center stage in understanding how plants respond to abiotic stresses // *Plant Cell Rep.* – 2013. – 32(7). – P. 945–957.
- Kojima K. Phytohormones in shoot and fruit of tomato; apoplast solution and seedless fruit // *JARQ.* – 2005. – 39(2). – P. 77–81.
- Köllmer I., Werner T., Schmülling T. Ectopic expression of different cytokinin-regulated transcription factor genes of *Arabidopsis thaliana* alters plant growth and development // *J. Plant Physiol.* – 2011. – 168. – P. 1320–1327.
- Kolyachkina S.V., Tararov V.I., Alexeev C.S. et al. N<sup>6</sup>-substituted adenosines. Cytokinin and antitumor activities // *Collect. Czech. Chem. Commun.* – 2011. – 76. – P. 1361–1378.
- Kosakivska I.V., Babenko L.M., Shcherbatiuk M.M., Vedenicheva N.P. et al. The microstructure organization and functional peculiarities of *Euphorbia paralias* L. and *Polygonum maritimum* L. - halophytic plants from dunes of Pomorie lake (Bulgaria) // *J. Stress. Physiol. Biochem.* – 2017. – 13(2). – P. 5–18.



- Kosakivska I.V., Voytenko L.V., Likhnyovskiy R.V. Effect of temperature on *Triticum aestivum* L. seedlings growth and phytohormone balance // J. Stress Physiol. Biochem. – 2015. – 11(4). – P. 91–99.
- Kovač M., Žel J. The effect of aluminum on cytokinins in the mycelia of *Amanita muscaria* // J. Plant Growth Regul. – 1995. – 14. – P. 117–120.
- Kowalska M., Galuszka P., Frébortová J. et al. Vacuolar and cytosolic cytokinin dehydrogenases of *Arabidopsis thaliana*: heterologous expression, purification and properties // Phytochemistry. – 2010. – 71. – P. 1970–1978.
- Krasensky J., Jonak C. Drought, salt, and temperature stress-induced metabolic rearrangements and regulatory networks // J. Exp. Bot. – 2012. – 63(4). – P. 1593–1608.
- Krouk G., Ruffel S., Gutiérrez R.A. et al. A framework integrating plant growth with hormones and nutrients // Trends Plant Sci. – 2011. – 16(4). – P. 178–182.
- Kucera B., Cohn M.C., Leubner-Metzger G. Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination // Seed Sci. Res. – 2005. – 15. – P. 281–307.
- Kudo T., Kiba T., Sakakibara H. Metabolism and long-distance translocation of cytokinins // J. Integr. Plant Biol. – 2010. – 52(1). – P. 53–60.
- Kudo T., Makita N., Kojima M. et al. Cytokinin activity of *cis*-zeatin and phenotypic alterations induced by overexpression of putative *cis*-zeatin-O-glucosyltransferase in rice // Plant Physiol. – 2012. – 160(1). – P. 319–331.
- Kudoyarova G.R., Farhutdinov R.G., Mitrichenko A.N. et al. Fast changes in growth rate and cytokinin content of the shoot following rapid cooling of roots of wheat seedling // Plant Growth Regul. – 1998. – 26. – P. 105–108.
- Kudoyarova G.R., Vysotskaya L.B., Cherkozyanova A., Dodd I.C. Effect of partial rootzone drying on the concentration of zeatin-type cytokinins in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) xylem sap and leaves // J. Exp. Bot. – 2007. – 58. – P. 161–168.
- Kudryakova N.V., Efimova M.V., Danilova M.N. et al. Exogenous brassinosteroids activate cytokinin signalling pathway gene expression in transgenic *Arabidopsis thaliana* // Plant Growth Regul. – 2013. – 70. – P. 61–69.
- Kuiper D. Sink strength: established and regulated by plant growth regulators // Plant Cell Environ. – 1993. – 16(9). – P. 1025–1026.

- Kulaeva O.N., Burkhanova E.A., Karavaiko N.N. et al. Chloroplasts affect the leaf response to cytokinin // *J. Plant Physiol.* – 2002. – 159(12). – P. 1309–1316.
- Kuppu S., Mishra N., Hu R. et al. Water-deficit inducible expression of a cytokinin biosynthetic gene IPT improves drought tolerance in cotton // *PLoS One.* – 2013 May 10;8(5):e64190. doi: 10.1371.
- Kurakawa T., Ueda N., Maekawa M. et al. Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme // *Nature.* – 2007. – 445. –P. 652–655.
- Kuriyama A., Kawai F., Kanamori M., Dathe W. Inhibitory effect of jasmonic acid on gametophytic growth, initiation and development of sporophytic shoots in *Equisetum arvense* // *J. Plant Physiol.* – 1993. – 141(6). – P. 694–697.
- Kuriyama A., Maeda M. Direct production of sporophytic plants from spores of *Equisetum arvense* // *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* – 1999. – 58(1). – P. 77–79.
- Kuriyama A., Takeuchi M., Kawai F., Kanamori M. Roles of iorganic nitrogen in gametophytic growth and in initiation and development of sporophytic shoots of *Equisetum arvense* // *Plant and Cell Physiol.* – 1992. – 33(5). – P. 647–650.
- Kushwah S., Jones A. M., Laxmi A. Cytokinin interplay with ethylene, auxin, and glucose signaling controls *Arabidopsis* seedling root directional growth // *Plant Physiol.* – 2011. – 156. – P. 1851–1866.
- Kyozuka J. Control of shoot and root meristem function by cytokinin // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2007. – 10. – P. 442–446.
- Lan P., Li W., Fischer R. *Arabidopsis thaliana* wild type, *pho1*, and *pho2* mutant plants show different responses to exogenous cytokinins // *Plant Physiol. Biochem.* – 2006. – 44. – P. 343–350.
- Laplaze L., Benkova E., Casimiro I. et al. Cytokinins act directly on lateral root founder cells to inhibit root initiation // *Plant Cell.* – 2007. – 19. – P. 3889–3900.
- Laule O., Fürholz A., Chang H.-S. et al. Crosstalk between cytosolic and plastidial pathways of isoprenoid biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2003. – 100. – P. 6866–6871.
- Lee D.J., Park J.Y., Ku S.J. et al. Genome-wide expression profiling of ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR 7(*ARR7*) overexpression in cytokinin response // *Mol. Genet. Genom.* – 2007. – 277. – P. 115–137.

- Leonard N.J., Hecht S.M., Skoog F., Schmitz, R.Y. Cytokinins: synthesis, mass spectra and biological activity of compounds related to zeatin // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1969. – 63. – P. 175–182.
- Letham D.S., Palni L.M.S. The biosynthesis and metabolism of cytokinins // Ann. Rev. Plant Physiol. – 1983. – 34. – P. 163–197.
- Letham D.S. Cytokinins as phytohormones-sites of biosynthesis, translocation and function of translocated cytokinin // Cytokinins: chemistry, activity and function / Eds. D.W.S. Mok, M.C. Mok. – Boca Raton (FL): CRC Press, 1994. – P. 57–80.
- Letham D.S. Zeatin, a factor including cell division isolated from *Zea mays* // Life Sci. – 1963. – 2. – P. 569–573.
- Li H., Xu T., Lin D. et al. Cytokinin signaling regulates pavement cell morphogenesis in Arabidopsis // Cell Res. – 2013a. – 23. – P. 290–299.
- Li J., Nie X., Li Hui Tan J., Berger F. Integration of epigenetic and genetic controls of seed size by cytokinin in *Arabidopsis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013b. – 110(38). – P. 15479–15484.
- Li J., Kinoshita T., Pandey S. et al. Modulation of an RNA-binding protein by abscisic-acid-activated protein kinase // Nature. – 2002. – 418. – P. 793–797.
- Liu X., Huang B. Cytokinin effects on creeping bentgrass response to heat stress // Crop Sci. – 2002. – 42. – P. 466–472.
- Li X., Mo X., Shou H., Wu P. Cytokinin-mediated cell cycling arrest of pericycle founder cells in lateral root initiation of Arabidopsis // Plant Cell Physiol. – 2006. – 47. – P. 1112–1123.
- Ljung K. Auxin metabolism and homeostasis during plant development // Development. – 2013. – 140. – P. 943–950.
- Lochmanová G., Zdráhal Z., Konečná H. et al. Cytokinin-induced photomorphogenesis in dark-grown Arabidopsis: a proteomic analysis // J. Exp. Bot. – 2008. – 59. – P. 3705–3719.
- Lohrmann J. The response regulator ARR2: a pollen-specific transcription factor involved in the expression of nuclear-encoded mitochondrial complex I genes // Mol. Gen. Genet. – 2001. – 265. – P. 2–13.
- Lomin S.N., Krivosheev D.M., Steklov M.Yu., Osolodkin D.I., Romanov G.A. Receptor properties and features of cytokinin signalling // Acta Naturae. – 2012. – 4(3). – P. 31–45.
- Lomin S.N., Yonekura-Sakakibara K., Romanov G.A., Sakakibara H. Ligand-binding properties and subcellular localization of maize cytokinin receptors // J. Exp. Bot. – 2011. – 62. – P. 5149–5159.

- Longo G.P., Pedretti M., Rossi G., Longo C.P. Effect of benzyladenine on the development of plastids and microbodies in excised watermelon cotyledons // *Planta*. – 1979. – 145. – P. 209–217.
- Lortie C.J., Aarssen L.W. The specialization hypothesis for phenotypic plasticity in plants // *Int. J. Plant Sci.* – 1996. – 157. – P. 484–487.
- Machácková I., Krekule J., Eder J. et al. Cytokinins in photoperiodic induction of flowering in *Chenopodium* species // *Physiol. Plantarum*. – 1993. – 87. – P. 160–166.
- Macková H., Hronková M., Dobrá J. et al. Enhanced drought and heat stress tolerance of tobacco plants with ectopically enhanced cytokinin oxidase/dehydrogenase gene expression // *J. Exp. Bot.* – 2013. – 64(10). – P. 2805–2815.
- Mähönen A.P., Bishopp A., Higuchi M. et al. Cytokinin signaling and its inhibitor AHP6 regulate cell fate during vascular development // *Science*. – 2006. – 311. – P. 94–98.
- Mähönen A.P., Bonke M., Kauppinen L. et al. A novel two-component hybrid molecule regulates vascular morphogenesis of the *Arabidopsis* root // *Genes and Development*. – 2000. – 14. – P. 2938–2943.
- Marhavý P., Bielach A., Abas L. et al. Cytokinin modulates endocytic trafficking of pin1 auxin efflux carrier to control plant organogenesis // *Dev. Cell*. – 2011. – 21. – P. 796–804.
- Mariotti L., Picciarelli P., Lombardi L., Ceccarelli N. Fruit-set and early fruit growth in tomato are associated with increases in indoleacetic acid, cytokinin, and bioactive gibberellin contents // *J. Plant Growth Regul.* – 2011. – 30. – P. 405–415.
- Martin R.C., Mok M.C., Habben J.E., Mok D.W.S. A maize cytokinin gene encoding an *O*-glucosyl-transferase specific to *cis*-zeatin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2001. – 98. – P. 5922–5926.
- Martin R.C., Mok M.C., Mok D.W.S. Isolation of a cytokinin gene, *ZOG1*, encoding zeatin *O*-glucosyltransferase from *Phaseolus lunatus* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1999. – 96(1). – P. 284–289.
- Maruyama A., Maeda M., Simidu U. Occurrence of plant hormone (cytokinin)-producing bacteria in the sea // *J. Appl. Bacteriol.* – 1986. – 61. – P. 569–574.
- Maruyama K., Urano K., Yoshiwara K. et al. Integrated analysis of the effects of cold and dehydration on rice metabolites, phytohormones, and gene transcripts // *Plant Physiol.* – 2014. – 164, № 4. – P. 1759–1771.

- Maruyama-Nakashita A., Nakamura Y., Watanabe-Takahashi A. et al. Induction of SULTR1;1 sulfate transporter in Arabidopsis roots involves protein phosphorylation/dephosphorylation circuit for transcriptional regulation // *Plant Cell Physiol.* – 2004. – 45. – P. 340–345.
- Maruyama S., Matsuzaki M., Misawa K., Nozaki H. Cyanobacterial contribution to the genomes of the plastid-lacking protists // *BMC Evol. Biol.* – 2009. – 9. – P. 197–220.
- Mason M.G., Jh.D., Hill K. et al. Type-B response regulators ARR1 and ARR12 regulate expression of AtHKT1;1 and accumulation of sodium in Arabidopsis shoots // *Plant J.* – 2010. – 64. – P. 753–763.
- Mason M.G., Mathews D.E., Argyros D.A. et al. Multiple type-B response regulators mediate cytokinin signal transduction in Arabidopsis // *Plant Cell.* – 2005. – 17. – P. 3007–3018.
- Matsui A., Ishida J., Morosawa T. Arabidopsis transcriptome analysis under drought, cold, high-salinity and ABA treatment conditions using a tiling array // *Plant Cell Physiology.* – 2008. – 49. – P. 1135–1149.
- Matsumoto-Kitano M., Kusumoto T., Tarkowski P. et al. Cytokinins are central regulators of cambial activity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2008. – 105. – P. 20027–20031.
- Matsuo S., Kikuchi K., Fukuda M., Honda I., Imanishi S. Roles and regulation of cytokinins in tomato fruit development // *J. Exp. Bot.* – 2012. – 63. – P. 5569–5579.
- McCabe M.S., Garratt L.C., Schepers F. et al. Effects of PSAG12-*IPT* gene expression on development and senescence in transgenic lettuce // *Plant Physiol.* – 2001. – 127. – P. 505–516.
- McKeon T.A., Hoffman N.E., Yang S.F. The effect of plant-hormone pretreatments on ethylene production and synthesis of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid in water-stressed wheat leaves // *Planta.* – 1982. – 155. – P. 437–443.
- Menéndez V., Abul Y., Bohanec B. et al. The effect of exogenous and endogenous phytohormones on the in vitro development of gametophyte and sporophyte in *Asplenium nidus* L. // *Acta Physiol. Plantarum.* – 2011. – 33. – P. 2493–2500.
- Merewitz E.B., Du H., Yu W. et al. Elevated cytokinin content in *ipt* transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation // *J. Exp. Bot.* – 2012. – 63(3). – P. 1315–1328.

- Merlot S., Giraud J. Genetic analysis of abscisic acid signal transduction // *Plant Physiol.* – 1997. – 114. – P. 751–757.
- Miller C.O., Skoog F., Von Saltza M.H., Strong M. Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1955. – 77. – P. 1392–1399.
- Mishra S.D., Gaur B.K. Modification of flag leaf senescence and yield characters in barley (*Hordeum vulgare* L.) by gibberellic acid and kinetin // *J. Plant Growth Regul.* – 1985. – 4. – P. 63–70.
- Mitrichenko A., Kudoyarova G., Veselov S., Valke R. Accumulation of zeatin-0-glucoside in heat-shocked tobacco plants // *Int. Symp. on Stress and Inorganic Nitrogen Assimilation and the 2<sup>nd</sup> FOHS Biosress Symp.* (Moscow, 1996, September 17–21). – Moscow, 1996. – P. 6.
- Miyawaki K., Matsumoto-Kitano M., Kakimoto T. Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in Arabidopsis: Tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate // *Plant J.* – 2004. – 37. – P. 128–138.
- Miyawaki K., Tarkowski P., Matsumoto-Kitano M. et al. Roles of Arabidopsis ATP/ADP isopentenyltransferases and tRNA isopentynyltrasferases in cytokinin biosynthesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – 103. – P. 16598–16603
- Mok D.W.S., Mok M.C. Cytokinin metabolism and action // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* – 2001. – 52. – P. 89–118.
- Mok D.W.S., Mok M.C., Shaw G., Dixon S.C., Martin R.C. Genetic differences in the enzymatic regulation of zeatin metabolism in Phaseolus embryos // *Plant growth substances / Eds R.P. Pharis, S.B. Rood.* – Berlin: Springer-Verlag, 1990. – P. 267–274.
- Molinsky J., Klanova M., Koc M. et al. Roscovitine sensitizes leukemia and lymphoma cells to tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis // *Leuk. Lymphoma.* – 2013. – 54. – P. 372–380.
- Mooney P.A., Van Staden J. Seasonal changes in the levels of endogenous cytokinins in *Sargassum heterophyllum* (*Phaeophyceae*) // *Bot. Mar.* – 1984. – 27. – P. 437–442.
- Morrison E.N., Knowles S., Hayward A. et al. Detection of phytohormones in temperate forest fungi predicts consistent abscisic acid production and a common pathway for cytokinin biosynthesis // *Mycologia.* – 2015. – 107. – P. 245–257.

- Morris R.O. Hormonal regulation of seed development // Cellular and molecular biology of plant seed development / Eds B.A. Larkins, I.K. Vasil. – Dordrecht: Kluwer, 1997. – P. 117–149.
- Moubayidin L., Di Mambro R., Sabatini S. Cytokinin–auxin crosstalk // Trends Plant Sci. – 2009. – 14(10). – P. 557–562.
- Moubayidin L., Perilli S., Dello Ioio R. et al. The rate of cell differentiation controls the Arabidopsis root meristem growth phase // Curr Biol. – 2010. – 20. – P. 1138–1143.
- Mukherjee D., Kumar R. Kinetin regulates plant growth and biochemical changes during maturation and senescence of leaves, flowers and pods of *Cajanus cajan* L. // Biol. Plant. – 2007. – 51(1). – P. 80–85.
- Mukhopadhyay R., Chatterjee S., Chatterjee B.P., Guha A.K. Enhancement of biomass production of edible mushroom *Pleurotus sajor-caju* grown in whey by plant growth hormones // Process Biochem. – 2005. – 40. – P. 1241–1244.
- Müller B., Sheen J. Cytokinin and auxin interaction in root stem-cell specification during early embryogenesis // Nature. – 2008. – 453. – P. 1094–1098.
- Muller D., Leyser O. Auxin, cytokinin and the control of shoot branching // Ann. Bot. – 2011. – 107(7). – P. 1203–1212.
- Munné-Bosch S., Müller M. Hormonal cross-talk in plant development and stress responses // Front. Plant Sci. – 2013. – 4. – P. 529–531.
- Munns R., James R.A., Läuchli A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals // J. Exp. Bot. – 2006. – 57, № 5. – P. 1025–1043.
- Munns R., Tester M. Mechanisms of salinity tolerance // Ann. Rev. Plant Biol. – 2008. – 59(1). – P. 651–681.
- Muñoz J.L., Martín L., Nicolas G., Villalobos N. Influence of endogenous cytokinins on reverse mobilization in cotyledons of *Cicer arietinum* L. // Plant Physiol. – 1990. – 93. – P. 1011–1016.
- Murai N., Skoog F., Doyle M.E., Hanson R.S. Relationship between cytokinin production, presence of plasmids and fasciation caused by strains of *Corynebacterium fascians* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1980. – 77. – P. 619–623.
- Murai N. Review: Plant growth hormone cytokinins control the crop seed yield // Amer. J. Plant Sci. – 2014. – 5. – P. 2178–2187.
- Musatenko L., Generalova V., Martyn G., Vedenicheva N., Vasyuk V. Hormonal complex and ultrastructure of maturing *Aesculus hippocastanum* seeds // Russ. J. Plant Physiol. – 2003. – 50(3). – P. 404–409.

- Musatenko L.I., Berestetsky V.A., Vedenicheva N.P. et al. Phytohormones and structure of cell of *Acer saccharinum* L. seed embryo // Biol. Plantarum. – 1995. – 37(4). – P. 553–559.
- Nam Y.J., Tran L.S., Kojima M. et al. Regulatory roles of cytokinins and cytokinin signaling in response to potassium deficiency in *Arabidopsis* // PLoS One. – 2012. – 7(10): e47797.
- Nandi S.K., Palni L.M., Letham D.S., Knypl J.S. The biosynthesis of cytokinins in germinating lupin seeds // J. Exp. Bot. – 1988. – 39(209). – P. 1649–1665.
- Naseem M., Kaldorf M., Hussain A., Dandekar T. The impact of cytokinin on jasmonate-salicylate antagonism in *Arabidopsis* immunity against infection with *Pst* DC3000 // Plant Signal Behav. – 2013. – 8(10). – e26791.
- Nayyar H., Walia D.P. Genotypic variation in wheat in response to water stress and abscisic acid-induced accumulation of osmolytes in developing grains // J. Agronomy and Crop Science. – 2004. – 190. – P. 39–45.
- Neuman D.S., Rood S.B., Smit B.A. Does cytokinin transport from root-to-shoot in the xylem sap regulate leaf responses to root hypoxia? // J. Exp. Bot. – 1990. – 41(10). – P. 1325–1333.
- Ng P.P., Cole A.L.J., Jameson P.E., McWh J.A. Cytokinin production by ectomycorrhizal fungi // New Phytol. – 1982. – 91. – P. 57–62.
- Niedźwiedz-Siegień I., Bukłaha S. The effect of cytokinins on flax seed germination at low temperature // Acta Soc. Bot. Poloniae. – 2006. – 75(4). – P. 174–177.
- Nishiyama R., Watanabe Y., Fujita Y. et al. Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis // Plant Cell. – 2011. – 23. – P. 2169–2183.
- Nordström A., Tarkowski P., Tarkowska D. et al. Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin–cytokinin-regulated development // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. – 101. – P. 8039–8044.
- O'Brien J.A., Benková E. Cytokinin cross-talking during biotic and abiotic stress responses // Front Plant Sci. – 2013. – 19(4). – P. 451. doi: 10.3389/fpls.2013.00451.
- Ohkama N., Takei K., Sakakibara H., Hayashi H., Yoneyama T., Fujiwara T. Regulation of sulfur-responsive gene expression by exogenously applied cytokinins in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Physiol. – 2002. – 43. – P. 1493–1501.



- Okazaki K., Kabeya Y., Suzuki K. et al. THE PLASTID DIVISION 1 and 2 components of the chloroplast division machinery determine the rate of chloroplast division in land plant differentiation // *Plant Cell*. – 2009. – 21. – P. 1769–1780.
- Ördög V., Stirk W.A., Van Staden J., Novák O., Strnad M. Endogenous cytokinins in three genera of microalgae from the *Chlorophyta* // *J. Phycol.* – 2004. – 40(1). – P. 88–95.
- Osmont K.S., Sibout R., Hardtke C.S. Hidden branches: Developments in root system architecture // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2007. – 58. – P. 93–113.
- Otria R., Casati S., Manzcocchi A. et al. Synthesis and evaluation of in vitro anticancer activity of some novel isopentenyladenosine derivatives // *Bioorg. Med. Chem.* – 2010. – 18. – P. 4249–4254.
- Overvoorde P., Fukaki H., Beeckman T. Auxin control of root development // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2010. – 2(6): a001537.
- Özcan B. GA3, ABA and cytokinin production by *Lentinus tigrinus* and *Laetiporus sulphureus* fungi cultured in the medium of olive oil mill waste // *Turk. J. Biol.* – 2001. – 25. – P. 453–462.
- Ozfidan C., Turkan I., Sekmen A.H., Seckin B. Time course analysis of ABA and non-ionic osmotic stress-induced changes in water status, chlorophyll fluorescence and osmotic adjustment in *Arabidopsis thaliana* wild-type (Columbia) and ABA-deficient mutant (*aba2*) // *Environ. Exp. Bot.* – 2013. – 86. – P. 44–51.
- Pačes V., Werstiuk E., Hall R.H. Conversion of  $N^6$ -( $\Delta^2$ -isopentenyl)adenosine to adenosine by enzyme activity in tobacco tissue // *Plant Physiol.* – 1971. – 48. – P. 775–778.
- Parent B., Hachez C., Redondo E. et al. Drought and abscisic acid effects on aquaporin content translate into changes in hydraulic conductivity and leaf growth rate: a trans-scale approach // *Plant Physiol.* – 2009. – 149. – P. 2000–2012.
- Patil J.G., Ahire M.A., Nikam T.D. Influence of plant growth regulators on in vitro seed germination and seedling development of *Digitalis purpurea* L. // *The Asian and Austral. J. Plant Sci. and Biotechnol.* – 2012. – 6. – P. 12–18.
- Paul A.-L., Daugherty C.J., Bihn E.A. et al. Transgene expression patterns indicate that spaceflight affects stress signal perception and transduction in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2001. – 126(2). – P. 613–621.
- Pedroza-Manrique J., Fernandez-Lizarazo C., Suarez-Silva A. Evaluation of the effect of three growth regulators in the germination of *Compaerttia falcata*

- seeds under in vitro conditions // *In Vitro Cell. and Develop. Biol. Plant.* – 2005. – 41. – P. 838–843.
- Peleg Z., Blumwald E. Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2011. – 14. – P. 290–295.
- Perez-Alfocea F., Albacete A., Ghanem M., Dodd I.C. Hormonal regulation of source-sink relations to maintain crop productivity under salinity: a case study of root-to-shoot signalling in tomato // *Funct. Plant Biol.* – 2010. – 37(7). – P. 592–603.
- Pernisová M., Klíma P., Horák J. et al. Cytokinins modulate auxin-induced organogenesis in plants via regulation of the auxin efflux // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – 106(9). – P. 3609–3614.
- Persson B.C., Esberg B., Ólafsen Ó., Björk G.R. Synthesis and function of isopentenyl adenosine derivatives in tRNA // *Biochimie.* – 1994. – 76. – P. 1152–1160.
- Pertry I., Václavíková K., Depuydt S. et al. Identification of *Rhodococcus fascians* cytokinins and their modus operandi to reshape the plant // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – 106. – P. 929–934.
- Pilate G., Sossountzov L., Miginiac E. Hormone levels and apical dominance in the aquatic fern *Marsilea drummondii* A.Br. // *Plant Physiol.* – 1989. – 90. – P. 907–912.
- Pilkington S.M., Montefiori M., Galer A.L. et al. Endogenous cytokinin in developing kiwifruit is implicated in maintaining fruit flesh chlorophyll levels // *Ann. Bot.* – 2013. – 112(1). – P. 57–68.
- Pils B., Heyl A. Unraveling the evolution of cytokinin signalling // *Plant Physiol.* – 2009. – 151. – P. 782–791.
- Polanska L., Vicankova A., Novakova M. et al. Altered cytokinin metabolism affects cytokinin, auxin, and abscisic acid contents in leaves and chloroplasts, and chloroplast ultrastructure in transgenic tobacco // *J. Exp. Bot.* – 2007. – 58. – P. 637–649.
- Pospíšilová J., Batkova P. Effects of pre-treatments with abscisic acid and/or benzyladenine on gas exchange of French bean, sugar beet, and maize leaves during water stress and after rehydration // *Biol. Plant.* – 2004. – 48. – P. 395–399.
- Pospíšilová J., Catsky J., Synkova H. et al. Gas exchange and in vivo chlorophyll fluorescence in potato and tobacco plantlets in vitro as affected by various concentrations of 6-benzylaminopurine // *Photosynthetica.* – 1993. – 29(1). – P. 1–12.

- Pospíšilová J., Synkova H., Rulcova J. Cytokinins and water stress // Biol. Plant. – 2000. – 43. – P. 321–328.
- Pospíšilová J., Vagner M., Malbeck J., Travnickova A., Batkova P. Interactions between abscisic acid and cytokinins during water stress and subsequent rehydration // Biol. Plant. – 2005. – 49. – P. 533–540.
- Prinsen E., Kaminek M., Van Onckelen H.A. Cytokinin biosynthesis: a black box? // Plant Growth Regul. – 1997. – 23. – P. 3–15.
- Punwani J.A., Hutchison C.E., Schaller G.E., Kieber J.J. The subcellular distribution of the *Arabidopsis* histidine phosphotransfer proteins is independent of cytokinin signalling // The Plant J. – 2010. – 62. – P. 473–482.
- Putarjunan A., Rodermeel S. *gigantea* suppresses *immutans* variegation by interactions with cytokinin and gibberellin signaling pathways // Plant Physiol. – 2014. – 166(4). – P. 2115–2132.
- Qin H., Gu Q., Zhang J. et al. Regulated expression of an *isopentenyltransferase* gene (*IPT*) in peanut significantly improves drought tolerance and increases yield under field conditions // Plant Cell Physiol. – 2011. – 52. – P. 1904–1914.
- Rahayu Y.S., Walch-Liu P., Neumann G. et al. Root-derived cytokinins as long-distance signals for NO<sub>3</sub>-induced stimulation of leaf growth // J. Exp. Bot. – 2005. – 56. – P. 1143–1152.
- Ramireddy E., Brenner W.G., Pfeifer A. et al. In planta analysis of a cis-regulatory cytokinin response motif in *Arabidopsis* and identification of a novel enhancer sequence // Plant Cell Physiol. – 2013. – 54. – P. 1079–1092.
- Ramonell R.M., Musgrave M.E. Low oxygen alterations in *Arabidopsis* leaf structure resemble brassinolide-deficient mutants // ASGBS Ann. Meeting Abstr. – 1998. – P. 48.
- Ranjeva R., Graziana A., Mazars C. Plant gravitropism: a newcomer's view // The FASEB J. – 1999. – 13. – P. 135–141.
- Rashotte A.M., Chae H.S., Maxwell B.M., Kieber J.J. The interaction of cytokinin with other signals // Physiol. Plant. – 2005. – 123. – P. 184–194.
- Ray S., Choudhuri M.A. Effect of plant growth regulators on grain-filling and yield of rice // Ann. Bot. – 1981. – 47(6). – P. 755–758.
- Redig P., Shaul O., Inze D. et al. Levels of endogenous cytokinins, indole-3-acetic acid and abscisic acid during the cell cycle of synchronized tobacco BY-2 cells // FEBS Lett. – 1996. – 391. – P. 175–180.

- Regier D.A., Morris R.O. Secretion of *trans*-zeatin by *Agrobacterium tumifaciens*: a function determined by the nonaline Ti plasmid // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1982. – 104. – P. 1560–1566.
- Reguera M., Peleg Z., Abdel-Tawab Y.M. et al. Stress-induced cytokinin synthesis increases drought tolerance through the coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation in rice // *Plant Physiol.* – 2013. – 163(4). – P. 1609–1622.
- Riefer M., Novak O., Strnad M., Schmülling T. *Arabidopsis* cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development and cytokinin metabolism // *Plant Cell.* – 2006. – 18(1). – P. 40–54.
- Rijavec T., Dermastia M. Cytokinins and their function in developing seeds // *Acta Chim. Slovenica.* – 2010. – 57(3). – P. 617–629.
- Rijavec T., Jain M., Dermastia M., Chourey P. S. Spatial and temporal profiles of cytokinin biosynthesis and accumulation in developing caryopsis of maize // *Ann. Bot.* – 2011. – 107. – P. 1235–1245.
- Riou-Khamlichi C., Huntley R., Jacqmard A., Murray J.A. Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin // *Science.* – 1999. – 283. – P. 1541–1544.
- Rivero R.M., Kojima M., Gepstein A. et al. Delayed leaf senescence induces extreme drought tolerance in a flowering plant // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2007. – 104. – P. 19631–19636.
- Rivero R.M., Shulaev V., Blumwald E. Cytokinin-dependent photorespiration and the protection of photosynthesis during water deficit // *Plant Physiol.* – 2009. – 150(3). – P. 1530–1540.
- Roitsch T., Ehneß T., Ehneß R. Regulation of source/sink relations by cytokinins // *Plant Growth Regul.* – 2000. – 32(2–3). – P. 359–367.
- Romanov G.A., Lomin S.N., Schmülling T. Biochemical characteristics and ligand-binding properties of *Arabidopsis* cytokinin receptor AHK3 compared to CRE1/AHK4 as revealed by a direct binding assay // *FEBS J.* – 2006. – 273. – P. 4631–4634.
- Ronzhina E.S., Mokronosov A.T. Source-sink relations and the role of cytokinins in the regulation of transport and partitioning of organic-substances in plants // *Russ. J. Plant Physiol.* – 1994. – 41. – P. 396–406.
- Ruffel S., Krouk G., Ristova D. et al. Nitrogen economics of root foraging: Transitive closure of the nitrate–cytokinin relay and distinct systemic

- signaling for N supply vs. demand // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2011. – 108. – P. 18524–18529.
- Rulcová J., Pospišilová J. Effect of benzylaminopurine on rehydration of bean plants after water stress // Biol. Plantarum. – 2001. – 44(1). – P. 75–81.
- Růžička K., Simásková M., Duclercq J. et al. Cytokinin regulates root meristem activity via modulation of the polar auxin transport // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2009. – 106. – P. 4284–4289.
- Sabovljević A., Soković M., Glamočlija J. et al. Comparison of extract bio-activities of in situ and in vitro growth selected bryophyte species // Afr. J. Microbiol. Res. – 2010. – 4(9). – P. 808–812.
- Saha Sh., Nagar P.K., Sircar P.K. Cytokinin concentration gradient in the developing grains and upper leaves of rice (*Oriza sativa* L.) during grain filling // Can. J. Bot. – 1986. – 9. – P. 2068–2072.
- Saini S., Sharma I., Kaur N., Pati P.K. Auxin: a master regulator in plant root development // Plant Cell Rep. – 2013. – 32(6). – P. 741–757.
- Sairam R.K., Aruna T. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants // Curr. Sci. – 2004. – 86(3). – P.407–421.
- Sakai H., Honma T., Aoyama T. et al. ARR1, a transcription factor for genes immediately responsive to cytokinins // Science. – 2001. – 294. – P. 1519–1521.
- Sakakibara H., Kasahara H., Ueda N. et al. . *Agrobacterium tumefaciens* increases cytokinin production in plastids by modifying the biosynthetic pathway in the host plant // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2005. – 102. – P. 9972–9977.
- Sakakibara H. Cytokinins: Activity, biosynthesis and translocation // Ann. Rev. Plant Biol. – 2006. – 57. – P. 431–449.
- Sakamoto T., Sakakibara H., Kojima M. et al. Ectopic expression of KNOX homeodomain protein induces expression of cytokinin biosynthesis gene in rice // Plant Physiol. – 2006. – 142. – P. 54–62.
- Sarafraz-Ardakani M.-R., Khavari-Nejad R.-A., Moradi F., Najafi F. Abscisic acid and cytokinin-induced osmotic and antioxidant regulation in two drought-tolerant and drought-sensitive cultivars of wheat during grain filling under water deficit in field conditions // Notulae Sci. Biol. – 2014. – 6(3). – P. 354–362.

- Schaller G.E., Shiu S.-H., Armitage Judith P. Two-component systems and their co-option for eukaryotic signal transduction // *Curr. Biol.* – 2011. – 21. – P. 320–330.
- Schaller G.E., Street I.H., Kieber J.J. Cytokinin and the cell cycle // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2014. – 21. – P. 7–15.
- Schmülling T., Werner T., Krämer U., Riefler M. The enhanced root system of cytokinin-deficient plants and its consequences for mineral uptake // *Plant nutrition for food security, human health and environmental protection* / Ed. C.J. Li. – Beijing: Tsinghua Univ. Press, 2005. – P. 474–475.
- Schmülling T., Werner T., Riefler M. et al. Structure and function of cytokinin oxidase/dehydrogenase genes of maize, rice, Arabidopsis and other species // *J. Plant Res.* – 2003. – 116. – P. 241–252.
- Scofield S., Dewitte W., Nieuwland J., Murray J.A.H. The Arabidopsis homeobox gene SHOOT MERISTEMLESS has cellular and meristem-organisational roles with differential requirements for cytokinin and CYCD3 activity // *Plant J.* – 2013. – 75. – P. 53–66.
- Séguéla M., Briat J.F., Vert G., Curie C. Cytokinins negatively regulate the root iron uptake machinery in Arabidopsis through a growth-dependent pathway // *Plant J.* – 2008. – 55. – P. 289–300.
- Shakirova F.M., Sakhabutdinova M.V., Farkhutdinova R.A., Farkhutdinova D.R. Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity // *Plant Sci.* – 2003. – 164(3). – P. 317–322.
- Shani E., Ben-Gera H., Shleizer-Burko Sh. et al. Cytokinin regulates compound leaf development in tomato // *Plant Cell.* – 2010. – 22(10). – P. 3206–3217.
- Shani E., Yanai O., Ori N. The role of hormones in shoot apical meristem function // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2006. – 9. – P. 1–6.
- Sharma H.S.S., Fleming C., Selby C., Rao J.R., Martin T. Plant biostimulants: a review on the processing of macroalgae and use of extracts for crop management to reduce abiotic and biotic stresses // *J. Appl. Phycol.* – 2014. – 26. – P. 465–490.
- She X.-P., Song X.-G. Cytokinin- and auxin-induced stomatal opening is related to the change of nitric oxide levels in guard cells in broad bean // *Physiol. Plant.* – 2006. – 128(3). – P. 569–579.
- Shi X., Gupta S., Lindquist I.E., et al. Transcriptome analysis of cytokinin response in tomato leaves // *PLoS ONE.* – 2013. – 8(8): 10.1371/annotation/58de6bf0-996f-418c-8970-13bbac3ddc20.

- Shi Y., Tian S., Hou L., Huang X., Zhang X., Guo H., Yang S. Ethylene signaling negatively regulates freezing tolerance by repressing expression of CBF and type-A ARR genes in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2012. – 24. – P. 2578–2595.
- Shkolnik-Inbar D., Bar-Zvi D. *ABI* mediates abscisic acid and cytokinin inhibition of lateral root formation by reducing polar auxin transport in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 2010. – 22(11). – P. 3560–3573.
- Shudo K. Chemistry of phenylurea cytokinins // *Cytokinins. Chemistry, activity and function* // Eds D.W.S. Mok, M.C. Mok. – Boca Raton; Ann Arbor; London; Tokyo: CRC Press, 1994. – P. 35–42.
- Singh S., Letham D.S., Palni L.M.S. Cytokinin biochemistry in relation to leaf senescence. VII. Endogenous cytokinin levels and exogenous applications of cytokinins in relation to sequential leaf senescence of Tobacco // *Physiol Plant*. – 1992. – 86. – P. 388–397.
- Skalák J., Černý M., Jedelský P. et al. Stimulation of *ipt* overexpression as a tool to the role of cytokinins in high temperature responses of *Arabidopsis thaliana* // *J. Exp. Bot.* – 2016. – 67(9). – P. 2861–2873.
- Skoog F., Miller C. O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro // *Symp. Soc. Exp. Biol.* – 1957. – 11. – P. 118–130.
- Skylar A., Wu X. Regulation of meristem size by cytokinin signaling // *J. Integr. Plant Biol.* – 2011. – 53(6). – P. 446–454.
- Slabý K., Šebánek J. Ontogenitické změny v hladině endogenních cytokiniových látek v listech *Bryophyllum crenatum* se zřetelem na polaritu lodyny // *Acta Univ. Agr.* – 1985. – A33(4). – P. 11–18.
- Song X.-G., She X.-P., He J.-M. et al. Cytokinin- and auxin-induced stomatal opening involves a decrease in levels of hydrogen peroxide in guard cells of *Vicia faba* // *Funct. Plant Biol.* – 2006. – 33(6). – P. 573–583.
- Spíchal L., Rakova N.Y., Riefler M. et al. Two cytokinin receptors of *Arabidopsis thaliana*, CRE1/AHK4 and AHK3, differ in their ligand specificity in a bacterial assay // *Plant Cell Physiol.* – 2004. – 45. – P. 1299–1305.
- Spíchal L. Cytokinins – recent news and views of evolutionally old molecules // *Funct. Plant Biol.* – 2012. – 39(4). – P. 267–284
- Spinola M., Galvan A., Pignatiello C. et al. Identification and functional characterization of the candidate tumor suppressor gene *TRIT1* in human lung cancer // *Oncogene*. – 2005. – 24. – P. 5502–5509.

- Spiro M.D., Torabi B., Cornell C.N. Cytokinins induce photomorphogenic development in dark-grown gametophytes of *Ceratopteris richardii* // Plant Cell Physiol. – 2004. – 45. – P. 1252–1260.
- Srivastava A., Handa A.K. Hormonal regulation of tomato fruit development: a molecular perspective // J. Plant Growth Regul. – 2005. – 24. – P. 67–82.
- Stetsenko L.A., Vedenicheva N.P., Likhnevsky R.V., Kuznetsov V.V. Influence of abscisic acid and fluridone on the content of phytohormones and polyamines and the level of oxidative stress in plants of *Mesembryanthemum crystallinum* L. under salinity // Biol. Bull. – 2015. – 42(2). – P. 98 – 107.
- Stirk W.A., Arthur G.D., Lourens A.F. et al. Changes in cytokinin and auxin concentrations in seaweed concentrates when stored at an elevated temperature // J. Appl. Phycol. – 2004. – 16. – P. 31–39.
- Stirk W.A., Novak O., Strnad M., Van Staden J. Cytokinins in macroalgae // Plant Growth Regul. – 2003. – 41. – P. 13–24.
- Stirk W.A., Novák O., Václavíková K. et al. Spatial and temporal changes in endogenous cytokinins in developing pea roots // Planta. – 2008. – 227. – P. 1279–1289.
- Stirk W.A., Van Staden J. Comparison of cytokinin- and auxin-like activity in some commercially used seaweed extracts // J. Appl. Phycol. – 1996. – 8, № 6. – P. 503–508.
- Stirk W.A., Van Staden J. Flow of cytokinins through the environment // Plant Growth Regul. – 2010. – 62(2). – P. 101–116.
- Stirk W.A., Van Staden J., Novák O. et al. Endogenous cytokinins, auxins and abscisic acid in *Ulva fasciata* (Chlorophyta) and *Dictyota humifusa* (Phaeophyta): towards understanding their biosynthesis and homeostasis // Europ. J. Phycology. – 2009. – 44(2). – P. 231–240.
- Subbiah V., Reddy K.J. Interactions between ethylene, abscisic acid and cytokinin during germination and seedling establishment in *Arabidopsis* // J. Biosci. – 2010. – 35(3). – P. 451–458.
- Su Y.-H., Liu Y.-B., Zhang X.-Sh. Auxin–cytokinin interaction regulates meristem development // Mol. Plant. – 2011. – 4(4). – P. 616–625.
- Suzuki T., Ito M., Kawaguchi M. Genetic basis of cytokinin and auxin functions during root nodule development // Front Plant Sci. – 2013. – 4. – P. 1–6.
- Suzuki T., Miwa K., Ishikawa K., Yamada H., Aiba H., Mizuno T. The *Arabidopsis* sensor His-kinase, AHK4, can respond to cytokinins // Plant Cell Physiol. – 2001. – 42. – P. 107–113.



- Swarup R., Parry G., Graham N., Allen T., Bennett M. Auxin cross-talk: Integration of signalling pathways to control plant development // *Plant Mol. Biol.* – 2002. – 49. – P. 411–426.
- Takahashi N., Kajihara T., Okamura C. et al. Cytokinins control endocycle onset by promoting the expression of an APC/C activator in *Arabidopsis* roots // *Curr Biol.* – 2013. – 23. – P. 1812–1817.
- Takei K., Sakakibara H., Sugiyama T. Identification of genes encoding adenylate isopentenyltransferase, a cytokinin biosynthesis enzyme in *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* – 2001a. – 276. – P. 26405–26410.
- Takei K., Sakakibara H., Taniguchi M., Sugiyama T. Nitrogen-dependant accumulation of cytokinins in root and the translocation to leaf: Implication of cytokinin species that induces gene expression of maize response regulator // *Plant Cell Physiol.* – 2001b. – 42. – P. 85–93.
- Takei K., Ueda N., Aoki K. et al. *AtIPT3* is a key determinant of nitrate-dependent cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis* // *Plant Cell Physiol.* – 2004b. – 45. – P. 1053–1062.
- Takei K., Yamaya T., Sakakibara H. *Arabidopsis* CYP735A1 and CYP735A2 encode cytokinin hydroxylases that catalyze the biosynthesis of trans-zeatin // *J. Biol. Chem.* – 2004a. – 279. – P. 41866–41872.
- Talla S.K., Panigrahy M., Kappara S. et al. Cytokinin delays dark-induced senescence in rice by maintaining the chlorophyll cycle and photosynthetic complexes // *J. Exp. Bot.* – 2016. – 67. – P. 1839–1851.
- Tanaka Y., Sano T., Tamaoki M. et al. Cytokinin and auxin inhibit abscisic acid-induced stomatal closure by enhancing ethylene production in *Arabidopsis* // *J. Exp. Bot.* – 2006a. – 57(10). – P. 2259–2266.
- Tanaka M., Takei K., Kojima M. et al. Auxin controls local cytokinin biosynthesis in the nodal stem in apical dominance // *The Plant J.* – 2006b. – 45. – P. 1028–1036.
- Tanaka Y., Suzuki T., Yamashino T., Mizuno T. Comparative studies of the AHP histidine-containing phosphotransmitters implicated in His-to-Asp phosphorelay in *Arabidopsis thaliana* // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2004. – 68. – P. 462–465.
- Tararov V.I., Tijmsa A., Kolyachkina S.V. et al. Chemical modification of the plant isoprenoid cytokinin N<sup>6</sup>-isopentenyladenosine yields a selective inhibitor of human enterovirus 71 replication // *Europ. J. Med. Chem.* – 2015. – 90. – P. 406–413.

- Tardieu F., Parent B., Simonneau T. Control of leaf growth by abscisic acid: hydraulic or non-hydraulic processes? // *Plant, Cell Environment*. – 2010. – 33. – P. 636–647.
- Tarkowská D., Novák J., Floková K. et al. Quo vadis plant hormone analysis? // *Planta*. – 2014. – 240. – P. 55–76.
- Taylor N.J., Stirk W.A., Van Staden J. The elusive cytokinin biosynthetic pathway // *South Afr. J. Bot.* – 2003. – 69. – P. 269–281.
- Thomas J.C., McElwain E.F., Bohnert H.J. Convergent induction of osmotic stress-responses: abscisic acid, cytokinin and the effect of NaCl // *Plant Physiol.* – 1992. – 100. – P. 416–423.
- Thompson A.J., Andrews J., Mulholland B.J. et al. Overproduction of abscisic acid in tomato increases transpiration efficiency and root hydraulic conductivity and influences leaf expansion // *Plant Physiol.* – 2007. – 143. – P. 1905–1917.
- To J.P., Deruère J., Maxwell B.B. et al. Cytokinin regulates type-A Arabidopsis response regulator activity and protein stability via two-component phosphorelay // *Plant Cell*. – 2007. – 19. – P. 3901–3914.
- Tran L.S., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Role of cytokinin responsive two-component system in ABA and osmotic stress signaling // *Plant Signal. Behav.* – 2010. – 5. – P. 148–150.
- Tran L.-S.P., Urao T., Qin F. et al. Functional analysis of AHK1/ATHK1 and cytokinin receptor histidine kinases in response to abscisic acid, drought, and salt stress in Arabidopsis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2007. – 104. – P. 20623–20628.
- Tripathy B.C., Brown C.B., Levine H.G., Krikorian A.D. Growth and photosynthetic responses of wheat plants grown in space // *Plant Physiol.* – 1996. – 110(3). – P. 801–806.
- Trouverie J., Chateau-Joubert S., Thevenot C. et al. Regulation of vacuolar invertase by abscisic acid or glucose in leaves and roots from maize plantlets // *Planta*. – 2004. – 219. – P. 894–905.
- Tuny L., Chowańska J., Chojanska K. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth: review // *Chemik*. – 2013. – 67(7). – P. 636–641.
- Türker M., Demirel K., Uzun Y. et al. Determination of phytohormones level in some dried and fresh macrofungi taxa // *Phyton – Annal. Bot.* – 2005. – 45. – P. 145–157.

- Turner J.E., Mok D.W.S., Mok M.C., Shaw G. Isolation and partial purification of an enzyme catalyzing the formation of O-xylosylzeatin in *Phaseolus vulgaris* embryos // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1987. – 84. – P. 3714–3717.
- Ueda J., Kato J. Inhibition of cytokinin-induced plant growth by jasmonic acid and its methyl ester // Physiol. Plant. – 1982. – 54(3). – P. 249–252.
- Ueguchi C., Sato S., Kato T., Tabata S. The AHK4 gene involved in the cytokinin-signaling pathway as a direct receptor molecule in *Arabidopsis thaliana* // Plant Cell Physiol. – 2001. – 42. – P. 751–755.
- Ulvskov P., Nielsen T.H., Seiden P., Marcussen J. Cytokinins and leaf development in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) // Planta. – 1992. – 188(1). – P. 70–77.
- Uzelac B., Janošević D., Stojičić D., Budimir S. Effect of cytokinins on shoot apical meristem in *Nicotiana tabacum* // Arch Biol Sci. – 2012. – 64. – P. 511–516.
- Vanneste S., Friml J. Auxin: a trigger for change in plant development // Cell. – 2009. – 136(6). – P. 1005–1016.
- Van Staden J., Davey J.E. The synthesis, transport and metabolism of endogenous cytokinins // Plant, Cell and Environ. – 1979. – 2(2). – P. 93–106.
- Van Staden J., Nicholson R.I.D. Cytokinins and mango flower malformation II. The cytokinin complement produced by *Fusarium moniliforme* and the ability of the fungus to incorporate [8-<sup>14</sup>C] adenine into cytokinins // Physiol. Mol. Plant Pathol. – 1989. – 35. – P. 423–431.
- Van Staden J. Seeds and cytokinins // Physiol. Plant. – 1983. – 58(3). – P. 340–346.
- Vanstraelen M., Benková E. Hormonal interactions in the regulation of plant development // Ann. Rev. Cell Develop. Biol. – 2012. – 28. – P. 463–87.
- Vaseva I., Todorova D., Malbeck J., Travníckova A., Machackova I. Response of cytokinin pool and cytokinin oxidase/dehydrogenase activity to abscisic acid exhibits organ specificity in peas // Acta Physiol. Plant. – 2008. – 30. – P. 151–155.
- Veach Y.K., Martin R.C., Mok D.W.S. et al. O-Glucosylation of cis-zeatin in maize. Characterization of genes, enzymes and endogenous cytokinins // Plant Physiol. – 2003. – 131. – P. 1374–1380.
- Vedenicheva N., Vizarova G., Musatenko L. Cytokinins of maturing and germinating french bean seed // Biologia. – 1991. – 46(1). – P. 23–30.

- Vedenicheva N.P., Al-Maali G.A., Mytropolska N.Yu., Mykhaylova O.B., Bisko N.A., Kosakivska I.V. Endogenous cytokinins in medicinal basidiomycetes mycelial biomass // *Biotechnol. Acta.* – 2016. – 9(1). – P. 55–63.
- Vedenicheva N.P., Voytenko L.V., Musatenko L.I., Stetsenko L.A., Sheviakova N.I. Changes of phytohormones content in halo- and glycophytes under salinity // *Stud. Biol.* – 2011. – 5(1). – P. 37–44.
- Veselov A., Lobov V., Oljunina L. Role of phytohormones in the regulation of plant response to a heat shock // *Biologija.* – 1998. – 3. – P. 65–68.
- Vogel J. P., Woeste K. E., Theologis A., Kieber J.J. Recessive and dominant mutations in the ethylene biosynthetic gene ACS5 of *Arabidopsis* confer cytokinin insensitivity and ethylene overproduction, respectively // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – 95. – P. 4766–4771.
- Voller J., Zatloukal M., Lenobel R. et al. Anticancer activity of natural cytokinins: A structure–activity relationship study // *Phytochemistry.* – 2010. – 71. – P. 1350–1359.
- Vomáčka L., Pospišilová J. Rehydration of sugar beet plants after water stress: effect of cytokinins // *Biol. Plant.* – 2003. – 46(1). – P. 57–62.
- Von Schwartzberg K., Núñez M.F., Blaschke H. et al. Cytokinins in the Bryophyte *Physcomitrella patens*: Analysis of activity, distribution, and cytokinin oxidase/dehydrogenase overexpression reveal the role of extracellular cytokinins // *Plant Physiol.* – 2007. – 145. – P. 786–800.
- Voß U., Bishopp A., Farcot E., Bennett M.J. Modelling hormonal response and development // *Trends Plant Sci.* – 2014. – 19(5). – P. 311–319.
- Vyroubalová Š., Václavíková K., Turecková V. et al. Characterization of new maize genes putatively involved in CK metabolism and their expression during osmotic stress in relation to CK levels // *Plant Physiol.* – 2009. – 151. – P. 433–447.
- Wahid A., Gelani S., Ashraf M., Foolad M.R. Heat tolerance in plants: an overview // *Environ. Exp. Bot.* – 2007. – 61. – P. 199–223.
- Wang J., Ma X.-M., Kojima M., Sakakibara H., Hou B.-K. Glucosyltransferase UGT76C1 finely modulates cytokinin responses via cytokinin N-glucosylation in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Physiol Biochem.* – 2013. – 65. – P. 9–16.
- Wang K., Zhang X., Ervin E. Antioxidative responses in roots and shoots of creeping bentgrass under high temperature: Effects of nitrogen and cytokinin // *J. Plant Physiol.* – 2012. – 169(3). – P. 492–500.

- Wang X.M., Yi K.K., Tao Y. et al. Cytokinin represses phosphate-starvation response through increasing of intracellular phosphate level // *Plant Cell Environ.* – 2006. – 29. – P. 1924–1935.
- Wang Y., Li L., Ye T., Zhao S., Liu Z., Feng Y.Q., Wu Y. Cytokinin antagonizes ABA-suppression to seed germination of *Arabidopsis* by down-regulating *ABI5* expression // *Plant J.* – 2011. – 68. – P. 249–261.
- Wang Y., Shen W., Chan Z., Wu Y. Endogenous cytokinin overproduction modulates ROS homeostasis and decrease salt stress resistance in *Arabidopsis thaliana* // *Front Plant Sci.* – 2015. – 6. – P. 1004.
- Wasser S.P. Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges // *Biomed. J.* – 2014. – 37(6). – P. 345–356.
- Wasternack C., Hause B. Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development // *Ann. Bot.* – 2013. – 111. – P. 1021–1058.
- Weiner J.J., Peterson F.C., Volkman B.F., Cutler S.R. Structural and functional insights into core ABA signaling // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2010. – 13(5). – P. 495–502.
- Weiss D., Ori N. Mechanisms of cross talk between gibberellin and other hormones // *Plant Physiol.* – 2007. – 144(3). – P. 1240–1246.
- Werner T., Holst K., Pörs Y. et al. Cytokinin deficiency causes distinct changes of sink and source parameters in tobacco shoots and roots // *J. Exp. Bot.* – 2008. – 59(10). – P. 2659–2672.
- Werner T., Köllmer I., Bartrina I., Holst K., Schmülling T. New insights into the biology of cytokinin degradation // *Plant Biol.* – 2006. – 8. – P. 371–381.
- Werner T., Motyka V., Laucou V. et al. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristems activity // *Plant Cell.* – 2003. – 15. – P. 2532–2550.
- Werner T., Motyka V., Laucou V. et al. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristems activity // *Plant Cell.* – 2003. – 15. – P. 2532–2550.
- Werner T., Motyka V., Strnad M., Schmülling T. Regulation of plant growth by cytokinin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – 98. – P. 10487–10492.
- Werner T., Nehnevajova E., Köllmer I. et al. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco // *Plant Cell.* – 2010. – 22. – P. 3905–3920.

- Werner T., Schmülling T. Cytokinin action in plant development // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2009. – 12. – P. 527–538.
- Woeste K. E., Vogel J. P., Kieber J.J. Factors regulating ethylene biosynthesis in etiolated *Arabidopsis thaliana* seedlings // *Physiol. Plant.* – 1999. – 105. – P. 478–484.
- Wolters H., Jürgens G. Survival of the flexible: hormonal growth control and adaptation in plant development // *Nat. Rev. Genet.* – 2009. – 10. – P. 305–317.
- Wulfetange K., Lomin S.N., Romanov G.A. et al. The cytokinin receptors of *Arabidopsis* are located mainly to the endoplasmic reticulum // *Plant Physiol.* – 2011. – 156. – P. 1808–1818.
- Xue-Xuan X., Hong-Bo S., Yuan-Yuan M. et al. Biotechnological implications from abscisic acid (ABA) roles in cold stress and leaf senescence as an important signal for improving plant sustainable survival under abiotic-stressed conditions // *Critical Rev. in Biotechnol.* – 2010. – 30(3). – P. 222–230.
- Xu Y., Burgess P., Zhang X. et al. Enhancing cytokinin synthesis by overexpressing ipt alleviated drought inhibition of root growth through activating ROS-scavenging systems in *Agrostis stolonifera* // *J. Exp. Bot.* – 2016. – 67(6). – P. 1979–992.
- Yamada H., Suzuki T., Terada K. et al. The *Arabidopsis AHK4* histidine kinase is a cytokinin-binding receptor that transduces cytokinin signals across the membrane // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – 42. – P. 1017–1023.
- Yamane H., Watanabe M., Satoh Y., Takahashi N., Iwatsuki K. Identification of cytokinins in two species of Pteridophyte sporophytes // *Plant Cell Physiol.* – 1983. – 24(6). – P. 1027–1031.
- Yang C., Liu J., Dong X. et al. Short-term and continuing stresses differentially interplay with multiple hormones to regulate plant survival and growth // *Mol. Plant.* – 2014. – 7(5). – P. 841–855.
- Yaronskaya E., Vershilovskaya I., Poers Y. et al. Cytokinin effects on tetrapyrrole biosynthesis and photosynthetic activity in barley seedlings // *Planta.* – 2006. – 224. – P. 700–709.
- Yemelyanov V.V., Shishova M.F. The role of phytohormones in the control of plant adaptation to oxygen depletion // *Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants* / Eds N.A. Khan, R. Nazar, N. Iqbal, N.A. Anjum. – Berlin; Heidelberg: Springer-Verlag, 2012. – P. 229–248.

- Ye N., Jia L., Zhang J. ABA signal in rice under stress conditions // *Rice*. – 2012. – 5:1 doi:10.1186/1939-8433-5-1.
- Yevdakova N.A., Motyka V., Malbeck J. et al. Evidence for importance of tRNA-dependent cytokinin biosynthetic pathway in the moss *Physcomitrella patens* // *J. Plant Growth Regul.* – 2008. – 27. – P. 271–281.
- Yildiz K., Muradoglu F., Yilmaz H. The effect of jasmonic acid on germination of dormant and nondormant pear (*Pyrus communis* L.) seeds // *Seed Sci. Technol.* – 2008. – 36(3). – P. 569–574.
- Yokoyama A., Yamashino T., Amano Y. et al. Type-B ARR transcription factors, *ARR10* and *ARR12*, are implicated in cytokinin-mediated regulation of protoxylem differentiation in roots of *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell Physiol.* – 2007. – 48. – P. 84–96.
- Yokoya N.S., Stirk W.A., Van Staden J. et al. Endogenous cytokinins, auxins and abscisic acid in red algae from Brazil // *J. Phycol.* – 2010. – 46. – P. 1198–1205.
- Yonekura-Sakakibara K., Kojima M., Yamaya T., Sakakibara H. Molecular characterization of cytokinin-responsive histidine kinases in maize. Differential ligand preferences and response to cis-zeatin // *Plant Physiol.* – 2004. – 134. – P. 1654–1651.
- Young N.F., Ferguson B.J., Antoniadis I. et al. Conditional auxin response and differential cytokinin profiles in shoot branching mutants // *Plant Physiol.* – 2014. – 165(4). – P. 1723–1736.
- Zalewski W., Galuszka P., Gasparis S. et al. Silencing of the HvCKX1 gene decreases the cytokinin oxidase/dehydrogenase level in barley and leads to higher plant productivity // *J. Exp. Bot.* – 2010. – 61. – P. 1839–1851.
- Zavaleta-Mancera H.A., Thomas B.J., Thomas H., Scott I.M. Regreening of senescent *Nicotiana* leaves. II. Redifferentiation of plastids // *J. Exp. Bot.* – 1999. – 50. – P. 1683–1689.
- Záveská Drábková L, Dobrev PI, Motyka V. Phytohormone profiling across the Bryophytes. PLoS ONE. 2015; 10(5): e0125411. doi:10.1371/journal.pone.0125411.
- Žd'árská M., Zatloukalová P., Benítez M. et al. Proteome analysis in *Arabidopsis* reveals shoot- and root-specific targets of cytokinin action and differential regulation of hormonal homeostasis // *Plant Physiol.* – 2013. – 161. – P. 918–930.
- Zhang W., Swarup R., Bennett M., Schaller G.E., Kieber J.J. Cytokinin induces cell division in the quiescent center of the *Arabidopsis* root apical meristem // *Curr. Biol.* – 2013. – 23. – P. 1979–1989.

- Zhao Z., Andersen S.U., Ljung K. et al. Hormonal control of the shoot stem-cell niche // *Nature*. – 2010. – 465. – P. 1089–1092.
- Zimmer A., Lang D., Richardt S., Frank W., Reski R., Rensing S.A. Dating the early evolution of plants: detection and molecular clock analyses of orthologs // *Mol. Genet. Genom.* – 2007. – 278. – P. 393–402.
- Žižková E., Kubeš M., Dobrev P. et al. Control of cytokinin and auxin homeostasis in cyanobacteria and algae // *Ann. Bot.* – 2017. – 119(1). – P. 151–166.
- Zubo Y., Yamburenko M., Selivankina S. et al. Cytokinin stimulates chloroplast transcription in detached barley leaf // *Plant Physiol.* – 2008. – 148. – P. 1082–1093.
- Zürcher E., Müller B. Cytokinin synthesis, signaling and function – advances and new insights // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* – 2016. – 324. – P. 1–38.
- Zürcher E., Tavor-Deslex D., Lituiev D. et al. A robust and sensitive synthetic sensor to monitor the transcriptional output of the cytokinin signaling network in planta // *Plant Physiol.* – 2013. – 161. – P. 1066–1075.
- Zwack P.J., Rashotte A.M. Cytokinin inhibition of leaf senescence // *Plant Signal Behav.* – 2013. – 8: e24737; <http://dx.doi.org/10.4161/psb.24737>
- Zwack P.J., Robinson B.R., Risley M.G., Rashotte A.M. Cytokinin Response Factor 6 negatively regulates leaf senescence and is induced in response to cytokinin and numerous abiotic stresses // *Plant Cell Physiol.* – 2013. – 54. – P. 971–981.



*Наукове видання*  
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ІНСТИТУТ БОТАНІКИ ім. М.Г. ХОЛОДНОГО

## **Цитокініни як регулятори онтогенезу рослин за різних умов зростання**

**Н.П. Веденичова, І.В. Косаківська**

*(українською мовою)*

Редактор *О.В. Пилипенко*

Комп'ютерна верстка *Д.С. Решетников*

Підп. до друку 12.07.2017. Формат 84×108/32. Папір офсетний. Ум.-друк. арк. 12,2.

Обл.-вид.арк. 9,8. Наклад 150 прим.

Друкарня «Наш Формат», 02105 Київ, проспект Миру, 7

Веденичова Ніна Петрівна – доктор біологічних наук, провідний науковий співробітник відділу фітогормонології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Її наукові дослідження зосереджені на вивченні ролі фітогормонів цитокінінової природи в регуляції процесів росту й розвитку, дозрівання та проростання насіння з різним типом спокою, з'ясуванні участі фітогормонів в адаптації до різних стресових чинників, включаючи мікрогравітацію, а також застосуванні екзогенних регуляторів росту для підвищення стійкості рослин. Вона автор 140 наукових праць, в т.ч. співавтор двох монографій.

Косаківська Ірина Василівна – доктор біологічних наук, професор, завідувач відділу фітогормонології Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, фахівець в галузі фізіології стресів. Започаткувала новий напрямок в молекулярній фізіології рослин „Фізіолого-біохімічні механізми адаптації рослин до стресів”. Лідер в галузі дослідження структурно-функціональних особливостей формування адаптаційного синдрому, автор 210 наукових праць, серед яких дві монографії.