

УДК 57.017.2:577.175.1

## ВПЛИВ ГІПЕРТЕРМІЇ НА ХАРАКТЕР АКУМУЛЯЦІЇ ТА ЛОКАЛІЗАЦІЮ АБСЦИЗОВОЇ КИСЛОТИ У СОРТІВ *GLYCINE MAX* (L.) MERR. З РІЗНОЮ СТІЙКІСТЮ ДО АБІОТИЧНИХ СТРЕСОРІВ

© 2017 р. І. В. Косаківська, Л. В. Войтенко, К. М. Яроцька

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного  
Національної академії наук України  
(Київ, Україна)

Методом високоефективної рідинної хроматографії мас-спектрометрії (ВЕРХ-МС) досліджено вплив короткотривалого теплового стресу (40°C, 2 год) на вміст вільної та кон'югованої форм абсцизової кислоти (АБК) у надземній частині і коренях двох сортів *Glycine max* (L.) Merr., що відрізнялися за стійкістю до абіотичних стресорів. Показано, що в органах 35-добових рослин холодостійкого сорту Подільська 416 та посухостійкого сорту КиВін, вирощених з інокульованого активним штамом азотфіксуючих бактерій *Bradyrhizobium japonicum* 6346 і з неінокульованого насіння, у контрольних умовах переважала вільна форма АБК, за винятком пагонів посухостійкого сорту КиВін. Неспецифічною реакцією-відповіддю на гіпертермію виявилось зростання вмісту ендогенної АБК в коренях обох досліджуваних сортів та у надземній частині сорту КиВін. Присутність азотфіксуючих бульбочок на коренях обох сортів сої позитивно вплинула на накопичення вільної форми гормону за умов гіпертермії. Найбільш виражені зміни вмісту АБК в умовах гіпертермії спостерігалися у рослин посухостійкого сорту КиВін. Здатність до акумуляції ендогенної АБК у пагонах сорту КиВін за дії високої температури відповідає посухостійкості сорту та розглядається як складова реакції-відповіді, що формується на початку дії стресору. Обговорюється можливість впливу ризосферних азотфіксуючих мікроорганізмів на характер накопичення ендогенної АБК у коренях рослин сої.

**Ключові слова:** *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, абсцизова кислота, гіпертермія

Координація й регуляція фізіологічних процесів за дії біотичних та абіотичних стресорів здійснюється за участю складної багатокомпонентної гормональної системи рослин (Косаківська, 2003; Колупасв, Косаківська, 2008). Визначальним у спрямованості та інтенсивності дії фітогормонів є концентрація та розподіл їх в органах і тканинах (Jaillais, Chogy, 2010). Особливого значення гормони набувають у взаємовідносинах вищих рослин і мікроорганізмів, зокрема, при становленні і функціонуванні бобово-ризобіального симбіозу (Коць, Грищук, 2015). Симбіотичні, ризосферні та епіфітні бактерії, які стимулюють і покращують ріст та розвиток рослин, здатні до самостійного продуку-

вання фітогормонів (Мошинець, Косаківська, 2010).

Поліфункціональний фітогормон абсцизова кислота (АБК) розглядається як один з ключових гормонів, задіяних у формуванні захисного механізму, спрямованого на уповільнення метаболізму й адаптацію до впливу негативних абіотичних і біотичних чинників (Sakata et al., 2014; Войтенко, Косаківська, 2016). У рослинних тканинах АБК міститься у вільній (активній) і кон'югованій (неактивній) формах. Домінуючою у вищих рослин є активна *цис*-АБК, тоді як *транс*-ізомер є неактивною формою. Основний кон'югат АБК – глюкозний ефір АБК – малоактивна транспортна форма гормону акумулюється у вакуолях. Кон'югати АБК є джерелом вільних активних форм гормону (Piotrowska, Bajguz, 2011).

Відомо, що під час посухи накопичення активної форми АБК у тканинах спричиняє за-

Адреса для кореспонденції: Косаківська Ірина Василівна, Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, вул. Терешківська, 2, Київ, 01601, Україна;  
e-mail: phytohormonology@ukr.net

криття продихів із подальшим зменшенням транспірації, збереженням водного статусу, що пом'якшує дію стресу (Nejad, Meeteren, 2007). Стимулюючи експресію окремих генів і синтез нових поліпептидів, АБК сприяє формуванню захисних реакцій і підвищенню стійкості рослин (Rock et al., 2010; Таланова и др., 2012). АБК розглядається як тригер при формуванні реакцій-відповідей на дефіцит води (Takezawa et al., 2011), дію низької та високої температури, засолення, посухи, вона бере участь у клітинному сигналіngu із залученням цитозольного кальцію і кальцій-зв'язуючих білків (Sakata et al., 2014).

Ключова роль у трансдукції сигналу та функціонуванні іон-транспортних мембранних систем у відповідь на стрес належить білкам-рецепторам АБК родини фосфатаз і кіназ (Osakabe et al., 2014). АБК активує COR-гени і гени родини LEA, продукти експресії яких безпосередньо залучені у формування стійкості рослин до дії низьких температур (Gusta et al., 2005). Зафіксовані в наших дослідженнях динамічні зміни у співвідношенні між активною та кон'югованою формами АБК та їх розподілом між коренями та пагонами вказують на участь фітогормону у формуванні стресової реакції-відповіді в проростках озимої пшениці на вплив високої та низької температур (Kosakivska et al., 2014; 2015).

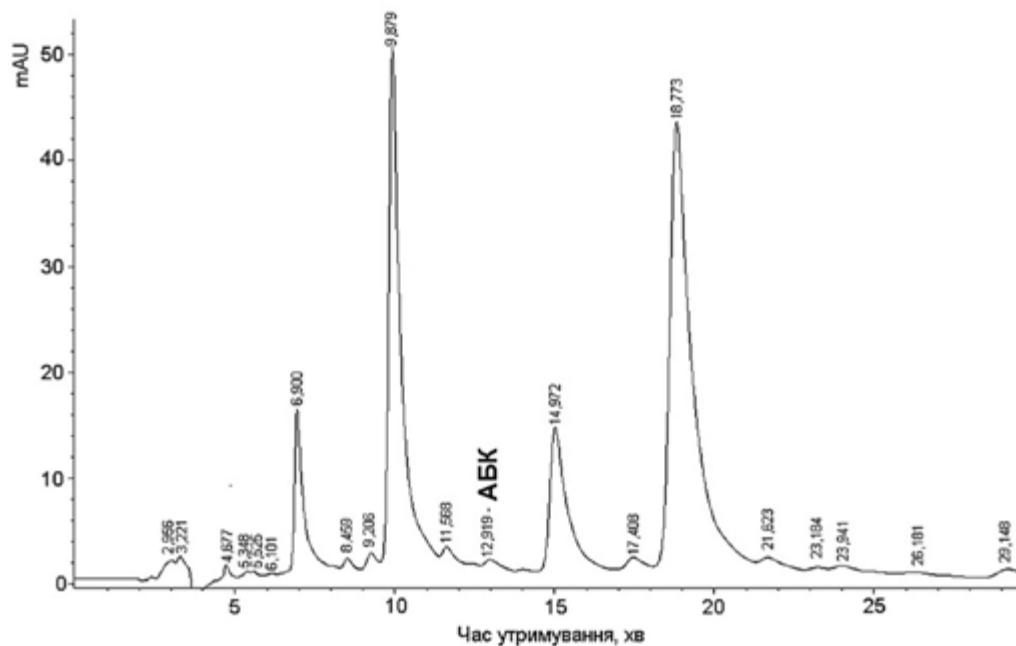
Регуляторна роль АБК у рослинно-мікробних взаємовідносинах залишається малодослідженою. Нині встановлено, що АБК пригнічує всі фази утворення бульбочок – ініціацію, розвиток і функціонування бульбочки, контролює процес нодуляції, регулюючи деформацію кореневого волоска, утворення інфекційної нитки та індукований цитокінінами поділ клітин; впливає на розподіл продуктів фотосинтезу у бульбочках, гальмує процес азотфіксації (Коць, Гришук, 2015; Ding et al., 2008). Встановлено, що АБК у певних концентраціях здатна пригнічувати розвиток бульбочок, не гальмуючи при цьому розвиток латеральних коренів (Sun et al., 2006; Ding et al., 2008; Ferguson, Mathesius, 2014). Припускають, що під час поділу кортикальних клітин АБК вступає у взаємодію з цитокінінами, що спричиняє пригнічення цього процесу (Жук, Мусієнко, 2011). Короткочасне підвищення вмісту АБК на початкових етапах взаємодії рослин із патогенними мікроорганізмами стимулює утворення калози, тоді як тривале підвищення концентрації гормону знижує ефективність захисних систем, що регулюються саліциловою, жасмоно-

вою кислотами та етиленом (Максимов, 2009). У більшості випадків АБК пригнічує ріст рослин і діє як антагоніст ауксинів, цитокінінів та гіберелінів. У наших попередніх дослідженнях ми проаналізували вплив високої температури на характер акумуляції і локалізації індоліл-3-оцтової кислоти, цитокінінів і продукцію етилену у інокульованих штамом мікроорганізмів *Bradyrhizobium japonicum* 6346 сортів сої, що відрізняються за стійкістю до абіотичних стресорів. Нами були встановлено специфічність зафіксованих змін, котрі залежали від стійкості сорту та наявності на кореневій системі бульбочок із азотфіксуючими мікроорганізмами (Дрок та ін., 2014; Косаківська та ін., 2016; 2017).

Створення високоефективних біопрепаратів із використанням живих культур азотфіксуючих мікроорганізмів є одним з пріоритетних напрямів у реалізації концепції екологічного аграрного виробництва. Можна припустити, що бактерії, які продукують фітогормони, беруть участь у формуванні стійкості рослин до мінливих умов зовнішнього середовища за рахунок модифікації їхнього гормонального статусу і фізіологічного стану у цілому. У зв'язку з цим метою нашої роботи стало вивчення впливу гіпертермії на динаміку накопичення та розподіл вільної і кон'югованої форм АБК у коренях і надземній частині сортів *Glycine max* (L.) Merr., що відрізняються за стійкістю до абіотичних стресорів, за умови інокуляції насіння активним штамом бульбочкових бактерій *Bradyrhizobium japonicum* 6346.

## МЕТОДИКА

Досліджували рослини холодостійкого сорту сої Подільська 416 (оригінатор Інститут агроєкології та біотехнології НААН) і посухостійкого сорту КиВін (оригінатор Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН). Для інокуляції насіння сої застосовували бульбочкові бактерії *Bradyrhizobium japonicum* 6346 (активний виробничий штам-стандарт) із мутайної Колекції штамів азотфіксуючих та асоціативних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Перед посівом насіння сої незаражували 15 хв. 70% розчином етанолу, промивали дистильованою водою та впродовж 1 год інкубували в суспензії бактерій *B. japonicum* 6346. Бактеріальний титр суспензії становив  $10^7$  клітин/мл. Рослини вирощували в умовах природного освітлення за вологості субстрату 60% у посудинах з піском. Джерелом компонентів мінерального живлення (молібдену, бору, мангану і міді) була суміш Гельрігеля,



**Рис. 1.** Хроматограма розділення складної суміші з вмістом ендогенної абсцизової кислоти з надземної частини 35-добових рослин *Glycine max* сорту Подільська 416.

до якої додавали 0,25 норми азоту (Дрок та ін., 2014). Відбір рослин для аналізу проводили під час активного функціонування симбіотичного апарату (35-та доба). Для вивчення впливу гіпертермії 35-добові рослини піддавали короткотривалій (впродовж 2 год) дії температури 40°C.

Фракцію АБК екстрагували охолодженням 80% етанолом із додаванням 1-2 крапель розчину антиоксиданту (0,02% діетилдитіокарбамату натрію). Спиртові екстракти випарювали до водного залишку і проморожували. Аліквоту розмороженого водного залишку розчином 2 н HCl доводили до рН 3,0 і центрифугували при 10000 об/хв. упродовж 20 хв. на центрифугі K-24 фірми «Janetski» (Німеччина). Використана методика виділення і очищення вільної і кон'югованої форм фітогормонів описана раніше (Kosakivska et al., 2014).

Остаточний аналіз якісного складу і кількісного вмісту АБК проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 LC з діодноматричним детектором G 1315 B (США), колонка Eclipse XDB-C 18 4,6×250 мм, розмір частинок 5 мкм та з використанням мас-селективного детектора з комбінованим джерелом іонізації (MM-ES+APCI) моделі 6120. Хроматографічне розділення АБК на діодноматричному детекторі проводили в УФ-області поглинання за аналітичної довжини хвилі детектування 254 нм, зі швидкістю рухомої фази 0,5 мл/хв у системі розчинників метанол : ультра-

чиста вода : оцтова кислота (40 : 59,9 : 0,1). Детекцію гормону на мас-селективному детекторі проводили в режимах SIM (маса 264) і Scan (у діапазоні мас 100-300) в Negative Polarity з напругою на фрагменторі 70В. Для ідентифікації гормону використовували немічені ( $\pm$ ) цис-, транс-АБК (Sigma, США). Аналіз і обробку хроматограм проводили за допомогою програмного забезпечення Chem Station версія В.03.01 у режимі *off line*.

Досліди проводили у триразовому біологічному та аналітичному повтореннях. Результати обробляли статистично ( $p \leq 0,05$ ) з використанням програм Microsoft Excel 2007 та Origin 6.0.

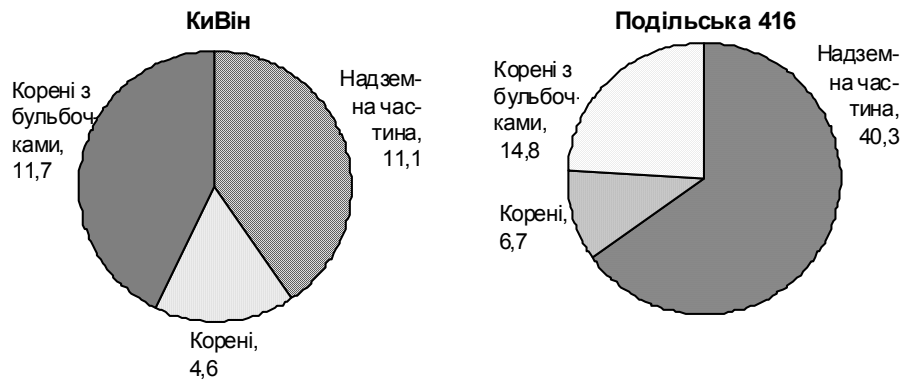
## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Раніше нами було встановлено, що обробка насіння обох досліджуваних сортів сої бульбочковими бактеріями *V. japonicum* 634б позитивно вплинула на ріст коренів і надземної частини рослин. Проте, за показниками маси надземної частини та кореня, а також за кількістю бульбочок на 35 добу після появи сходів переважали інокульовані рослини холодостійкого сорту Подільська 416 (Косаківська та ін., 2017).

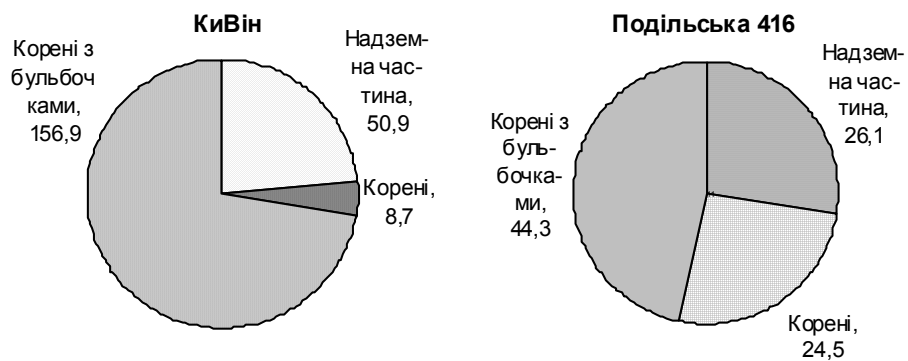
Методом вискоелективної рідинної хроматографії-мас-спектрометрії у рослин сої було визначено вміст ендогенної АБК (рис. 1). Встановлено, що центром локалізації АБК є

**ВПЛИВ ГІПЕРТЕРМІЇ НА ХАРАКТЕР АКУМУЛЯЦІЇ**

**А**



**Б**



**Рис. 2. Вміст ендогенної абсцизової кислоти в органах 35-добових рослин *Glycine max* в умовах контролю (А) та за короткотривалої дії температурного стресу (Б) (нг/г сирової речовини).**

надземна частина. У сорту Подільська 416 вміст гормону у пагонах склав 40,3 нг/г сирової речовини, що у 6 разів перевищувало рівень ендогенної АБК у коренях, тоді як у пагонах сорту КиВін кількість ендогенної АБК дорівнювала 11,1 нг/г сирової речовини, що у 2,4 раза перевершувало вміст у коренях (рис. 2, А). У коренях сорту КиВін з азотфіксуючими бульбочками виявлено зростання вмісту ендогенної АБК до рівня гормону в надземній частині, тоді як у присутності азотфіксуючих бульбочок у сорту Подільська 416 пул гормону піднявся до 14,6 нг/г маси сирової речовини і залишився меншим ніж у надземній частині (рис. 2, А). У пагонах холодостійкого сорту Подільська 416 вміст ендогенної АБК був у чотири рази вищим, ніж у пагонах посухостійкого сорту КиВін. Кількісні показники фітогормону в інкульованих та неінкульованих коренях обох сортів сої були у межах одного порядку (рис. 2, А).

У роботах інших авторів повідомлялось про здатність азотфіксуючих бактерій до самостійного синтезу фітогормонів, у тому числі АБК (Voiero et al., 2007; Karadeniz et al., 2006). Вважають, що фітогормони, синтезовані бакте-

рїями як вторинні метаболіти, не мають безпосередньої фізіологічної дії на самі бактерії, проте є важливим чинником для встановлення ефективної рослинно-бактеріальної асоціації (Park et al., 2017). Так, синтезована бактеріями АБК задіяна у регуляції процесів накопичення вуглеводів та їхнього транспорту в бульбочки, де вони використовуються як джерело енергії для росту, розвитку, азотфіксації та дихання рослин і ризобій (Murakami-Mizukami et al., 1991; Ferguson, Mathesius, 2003). Показано, що ендогенна АБК не лише регулює процеси бульбочкоутворення, а й підвищує активність фіксації азоту (Tomimaga et al., 2009; 2010). З огляду на це, отримані нами дані дозволяють припустити, що зафіксоване зростання вмісту АБК в коренях досліджених сортів сої у присутності азотфіксуючих бульбочок може бути результатом продукування гормону асоційованими з рослиною бактеріями.

Після короткотривалого теплового стресу вміст ендогенної АБК у надземній частині холодостійкого сорту Подільська 416 зменшився у 1,5 раза, тоді як у коренях без азотфіксуючих бульбочок та з бульбочками збільшився у 3,6 та

3,0 рази, відповідно (рис. 2, Б). Водночас у посухостійкого сорту КиВін різне за інтенсивністю зростання вмісту ендогенної АБК було зафіксоване в усіх досліджуваних органах. Найбільш виразні зміни відбулися у пагонах сорту КиВін, де вміст гормону збільшився у п'ять разів, тоді як у коренях пул АБК подвоївся. Найвищий показник визначено для коренів з бульбочками (156,9 нг/г сирої речовини). Він у 3,5 раза перевищував такий у коренях з бульбочками сорту Подільська 416 (рис. 2, Б).

Як відомо, акумуляція АБК в замикаючих клітинах продихів у відповідь на посуху призводить до уникнення втрати води шляхом закриття продихів (Wilkinson, Davies, 2010). Водночас закриття продихів призводить до зменшення фіксації CO<sub>2</sub> і відповідно зменшення накопичення органічної речовини, тому ця реакція корисна для збереження води, але негативно позначається на продуктивності.

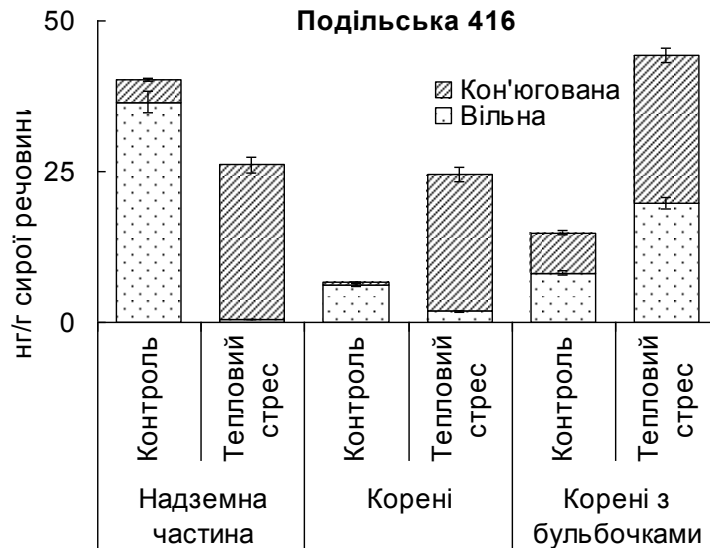
Дослідження механізму дії АБК виявило, що гормон активує гени, продукти експресії яких беруть участь у захисті рослинних тканин від зневоднення та стимулюють набуття посухостійкості (Umezawa et al., 2010). Нині встановлено більшість генів і факторів, задіяних у регуляції сигналіну внутрішньоклітинної (Hirayama, Shinozaki, 2007; 2010) та міжклітинної комунікації АБК (Kurotori et al., 2010). Показано, що за дії високої температури у судинних тканинах листка відбувається оверекспресія рецептора AtABCG25, що є транспортером АБК через плазматичну мембрану клітин судин до продихів (Kurotori et al., 2010). Інший транспортер АБК з родини ABC – AtABCG40, найбільший вміст котрого виявлено у замикаючих клітинах продихів, у молодих проростках, в первинних і бічних коренях, є імпортером АБК через плазматичні мембрани та інтегрує АБК залежні сигнальні і транспортні процеси (Kang et al., 2010). Беручи до уваги наведені вище відомості, ми припускаємо, що зафіксоване нами збільшення вмісту АБК у надземній частині посухостійкого сорту КиВін за дії високої температури може бути результатом гіперсинтезу гормону з наступним надходженням його до замикаючих клітин продихів для запобігання втраті вологи. Здатність до акумуляції ендогенної АБК у пагонах сорту КиВін за дії високої температури відповідає посухостійкості сорту, і, на нашу думку, є складовою реакції-відповіді.

Нами було встановлено, що короткотривалий тепловий стрес викликав суттєве зростання вмісту ендогенної АБК у коренях з азотфіксуючими бульбочками. У холодостійкого

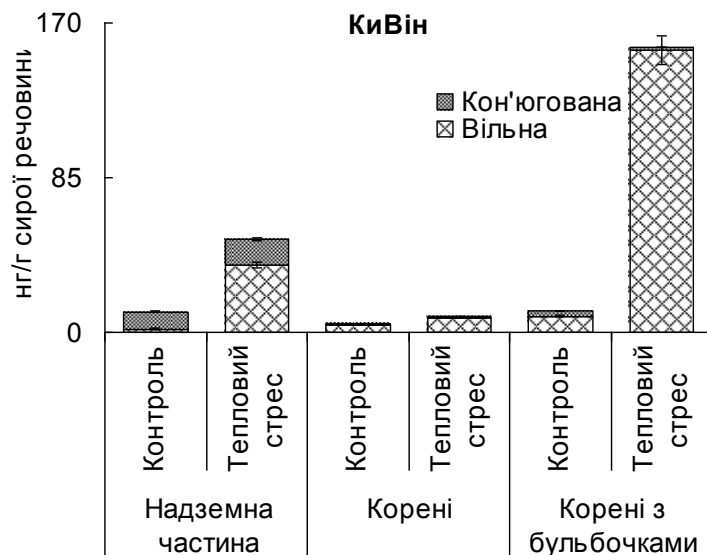
сорту Подільська 416 зафіксовано збільшення вмісту гормону утричі (до 44,3 нг/г сирої речовини). У присутності азотфіксуючих бульбочок у коренях посухостійкого сорту КиВін вміст АБК збільшився майже у 13 разів (рис. 2, Б). Загалом зміни вмісту ендогенної АБК в органах сорту КиВін були більш виразними, ніж у сорту Подільська 416 (рис. 2, Б). На нашу думку, зростання вмісту АБК в коренях інокульованих рослин може бути зумовлене подіями, що одночасно відбуваються у бульбочках з мікроорганізмами та кореневій системі сої.

Як повідомлялося, здатність синтезувати АБК, особливо в стресових умовах, і впливати на її вміст у рослин виявлено у мікроорганізмів родів *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Brevibacterium* та *Lysinibacillus* (Belimov et al., 2014; Dodd et al., 2010). Показано, що інокуляція бактеріями сприяє запуску комплексу антиоксидантних захисних реакцій, покращує надходження поживних елементів, підвищує стресостійкість та продуктивність рослин (Белимов, Тихонович, 2011). Так, у інокульованій АБК-продукуючим штамом *Azospirillum lipoferum* USA 59b рослин кукурудзи зростала посухостійкість (Cohen et al., 2009). З'ясувалося, що вміст, співвідношення і фізіологічна роль різних класів фітогормонів на окремих етапах формування бульбочок не є константними величинами (Коць и др., 2010, 2011; Libbenga et al., 1973). Встановлено, що АБК епідермальних та кортикальних клітин кореня *Medicago truncatula* регулює Nod-факторний сигналінг в епідермісі та цитокініновий у кортексі, тоді як утворення бульбочок й латеральних коренів залежить від балансу між ауксинами та цитокінінами (Ding et al., 2008). Припускають, що саме АБК задіяна у сигналіну між клітинами епідермісу, кортексу і перициклу (Ding, Oldroyd, 2009). Зафіксоване нами зростання вмісту АБК в інокульованих коренях обох сортів сої свідчить про участь гормону у формуванні ранніх захисних реакцій у відповідь на короткотривалий тепловий стрес. Спираючись на результати інших дослідників, можна припустити, що АБК виступає тригером сигнальних каскадів цитокінінів та ауксинів у рослині та бульбочках (Ding et al., 2008; Ding, Oldroyd, 2009). Зростання вмісту АБК за умов гіпертермії позитивно впливає на формування стресостійкості рослини-господаря, що виявляється корисним для ризосферних, філосферних та ендодітних мікроорганізмів, котрі співіснують з рослиною-господарем (Мошинець, Косаківська, 2010; Максимов и др., 2015; Sgroj et al., 2009).

**ВПЛИВ ГІПЕРТЕРМІЇ НА ХАРАКТЕР АКУМУЛЯЦІЇ**



**Рис. 3. Вплив гіпертермії на вміст вільної та кон'югованої форм абсцизової кислоти в органах 35-добових рослин *Glycine max* сорту Подільська 416.**



**Рис. 4. Вплив гіпертермії на вміст вільної та кон'югованої форм абсцизової кислоти в органах 35-добових рослин *Glycine max* сорту КиВін.**

Аналіз розподілу форм АБК показав, що в контрольних умовах в органах 35-добових рослин холодостійкого сорту Подільська 416 домінувала вільна форма гормону. Вміст активної форми АБК в коренях з азотфіксуючими бульбочками та без них перебував на одному рівні в межах похибки. Кон'югована форма гормону була локалізована переважно у коренях з бульбочками і досягала 6,6 нг/г сирової речовини. Її вміст у надземній частині був досить низьким, у коренях без бульбочок – гормон містився у слідових кількостях (рис. 3).

За умов гіпертермії були зафіксовані наступні зміни в характері акумуляції, локалізації

та співвідношенні між вільною та кон'югованою формами гормону в органах 35-добових рослин сорту Подільська 416. Так, у надземній частині, коренях без бульбочок та з азотфіксуючими бульбочками кількісно переважала кон'югована форма АБК. Накопичення вільної форми у кількості 19,7 нг/г сирової речовини відбулося у коренях з бульбочками. У надземній частині гіпертермія викликала зменшення вмісту вільної (до слідових значень) та збільшення кількості кон'югованої (до 25,6 нг/г сирової речовини) форми АБК. Аналогічні зміни щодо розподілу вмісту АБК за стресових умов спостерігали у коренях без бульбочок. При цьому вміст кон'югованої АБК в надземній ча-

стині та коренях за дії стресу був практично на одному рівні. У коренях з азотфіксуючими бульбочками спостерігалось збільшення вмісту вільної та кон'югованої форм АБК у 2,4 та 4 рази, відповідно (рис. 3).

Результати розподілу та локалізації АБК у надземній частині та коренях 35-добових рослин посухостійкого сорту КиВін, вирощених з неінокульованого та інокульованого штамом бульбочкових бактерій *B. japonicum* 6346 на сіння, представлені на рис. 4. Встановлено, що у контролі в надземній частині вміст кон'югованої форми переважав над вільною майже у 9 разів. Натомість у неінокульованих та інокульованих коренях домінувала вільна форма АБК. При цьому її вміст у коренях з азотфіксуючими бульбочками був удвічі вищим, ніж у коренях без бульбочок (рис. 4).

Гіпертермія спричиняла зміни у якісному складі АБК в органах посухостійкого сорту КиВін. Так, в усіх досліджуваних органах спостерігалось істотне збільшення вмісту вільної форми АБК. Найбільше підвищення (у 13 разів) кількості вільної АБК виявлено у коренях з бульбочками, тоді як у коренях без бульбочок вміст АБК зріс лише у два рази порівняно з контролем. За дії стресу зростання вмісту кон'югованої форми АБК спостерігали лише у надземній частині з 9,2 до 13,8 нг/г сирої речовини. Натомість у коренях без бульбочок та з бульбочками вміст кон'югованої АБК за дії стресу залишався практично незмінним (рис. 4).

Отже, присутність азотфіксуючих бульбочок на коренях обох сортів сої позитивно вплинула на накопичення вільної форми гормону за умов гіпертермії. У посухостійкого сорту КиВін вміст активної форми гормону був значно вищим, ніж у холодостійкого сорту Подільська 416. Результати досліджень інших авторів, які встановили, що вміст гормону визначається його продукуванням як самою рослиною, так і ґрунтовими та ендоефітними мікроорганізмами (Tsavkelova et al., 2006; Forchetti et al., 2007; Masciarelli et al., 2014; Глянько, 2015; Коць, Гришук, 2015; Stec et al., 2016), дозволяє нам припустити, що зростання вмісту АБК у коренях з азотфіксуючими бульбочками зумовлене змінами у функціонуванні систем синтез/деградація і кон'югація/гідроліз АБК, спричиненими присутністю ризосферних мікроорганізмів.

*Автори висловлюють щире подяку чл.-кор. НАН України С. Я. Коцю за надання активного виробничого штаму бульбочкової бактерії*

*Bradyrhizobium japonicum* 6346 із музейної Колекції штамів азотфіксуючих та асоціативних мікроорганізмів Інституту фізіології рослин і генетики НАН України.

## ЛІТЕРАТУРА

- Белимов А.А., Тихонович І.А. Микробиологические аспекты устойчивости и аккумуляции тяжелых металлов у растений // С.-х. биология. – 2011. – № 3. – С. 10-15.
- Войтенко Л.В., Косаківська І.В. Поліфункціональний фітогормон абсцизова кислота // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. – 2016. – Вип. 1 (37). – С. 27-41.
- Глянько А.К. Фитогормоны и клубенькообразование у бобовых растений // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2015. – Вип. 3 (36). – С. 6-19.
- Дрок К.М., Маменко П.М., Омельчук С.В., Косаківська І.В. Особливості симбіотичної системи і продукції етилену у сортів *Glycine max* (L.) Merr., що відрізняються за стійкістю до абіотичних стресорів. // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2014. – Вип. 3 (33). – С. 21-28.
- Жук В.В., Мусієнко М.М. Вплив екзогенних цитокінінів на стійкість пшениці за умов посухи // Вісн. аграрн. науки. – 2011. – № 3 (695). – С. 34-36.
- Колупаєв Ю.С., Косаківська І.В. Роль сигнальних систем і фітогормонів у реалізації стресових реакцій рослин // Укр. бот. журнал. – 2008. – Т. 65, № 3. – С. 418-430.
- Косаківська І.В. Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. К.: Сталь, 2003. – 191 с.
- Косаківська І.В., Войтенко Л.В., Яроцька К.М., Ліхновський Р.В. Вплив гіпертермії на характер акумуляції та локалізацію індоліл-3-оцтової кислоти у сортів *Glycine max* (L.) Merr. з різною стійкістю до абіотичних стресорів // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. – 2017. – Вип. 2 (41). – С. 32-40.
- 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. – Т. 48, № 1. – С. 56-64.
- Коць С.Я., Моргунов В.В., Патыка В.Ф., Маличенко С.М., Маменко П.Н., Киризий Д.А., Михалкив Л.М., Береговенко С.К., Мельникова Н.Н. Биологическая фиксация азота: бобово-ризобияльный симбиоз – К.: Логос, 2011. – Т. 2. – 523 с.
- Коць С.Я., Волкогон М.В., Гришук О.О. Способность штаммов и Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* к синтезу ИУК и АБК *in vitro* // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – Т. 42, № 6. – С. 491-496.

## ВПЛИВ ГІПЕРТЕРМІЇ НА ХАРАКТЕР АКУМУЛЯЦІЇ

- Коць С.Я., Грищук О.О. Фітогормони у формуванні та функціонуванні симбіотичних взаємовідносин бобових рослин і бульбочкових бактерій // Физиология растений и генетика – 2015. – Т. 47, № 3. – С. 187-206.
- Максимов И.В. Абсцизовая кислота во взаимоотношениях растений и микроорганизмов // Физиология растений. – 2009. – Т. 56, № 6. – С. 824-835.
- Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., Сарварова Е. Р., Хайруллин Р. М. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 6. – С. 763-775.
- Мошинець О.В., Косаківська І.В. Екологія фітосфери: рослинно-мікробні взаємовідносини. Ч. 2. Фітосфера як екологічна ніша рослинно-мікробних взаємовідносин. Функціональна активність мікроорганізмів та їхній вплив на рослини // Вісн. Харків. нац. аграрн. ун-ту. Сер. Біологія. – 2010. – Вип. 3 (21). – С. 6-22.
- Таланова В.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В., Фролова С.А. Влияние абсцизовой кислоты на экспрессию генов цистеиновой протеиназы и ее ингибитора при холодной адаптации растений пшеницы // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 4. – С. 627-631.
- Belimov A.A., Dodd I.C., Safronova V.I., Dumova V.A., Shaposhnikov A.I., Ladatko A.G., Davies W.J. Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations in planta and alter plant growth // Plant Physiol. Biochem. – 2014. – V. 74. – P. 84-91.
- Boiero L., Perrig D., Masciarelli O., Penna C., Cassán F., Luna V. Phytohormone production by three strains of *Bradyrhizobium japonicum* and possible physiological and technological implications // Appl. Microbiol. Cell Physiol. – 2007. – V. 74. – P. 874-880.
- Cohen A.C., Travaglia C.N., Bottini R., Piccoli P.N. Participation of abscisic acid and gibberellins produced by endophytic *Azospirillum* in the alleviation of drought effects in maize // Botany. – 2009. – V. 87. – P. 455-462.
- Ding Y.L., Kalo P., Yendrek C., Sun J.H., Liang Y., Marsh J.F., Harris J.M., Oldroyd G.E.D. Abscisic acid coordinates Nod factor and cytokinin signaling during the regulation of nodulation in *Medicago truncatula* // Plant Cell. – 2008. – V. 20. – P. 2681-2685.
- Ding Y., Oldroyd G.E.D. Positioning the nodule, the hormone dictum // Plant Signaling Behavior. – 2009. – V. 4. – P. 89-93.
- Dodd I.C., Zinovkina N.Y., Safronova V.I., Belimov A.A. Rhizobacterial mediation of plant hormone status // Ann. Appl. Biol. – 2010. – V. 157. – P. 361-379.
- Ferguson B.J., Mathesius U. Phytohormone regulation of legume-rhizobia interactions // J. Chem. Ecol. – 2014. – V. 40. – P. 770-790.
- Ferguson B.J., Mathesius U. Signaling interactions during nodule development // J. Plant Growth Regul. – 2003. – V. 22. – P. 47-72.
- Forchetti G., Masciarelli O., Alemano S., Alvarez D., Abdala G. Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.): isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – V. 76. – P. 1145-1152.
- Gusta L., Trischuk R., Weiser C.J. Plant cold acclimation: the role of abscisic acid // J. Plant Growth Regul. – 2005. – V. 24. – P. 308-318.
- Hirayama T., Shinozaki K. Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA // Trends Plant Sci. – 2007. – V. 12. – P. 343-351.
- Hirayama T., Shinozaki K. Research on plant abiotic stress responses in the post-genome era: past, present and future // Plant J. – 2010. – V. 61. – P. 1041-1052.
- Jaillais Y., Chory J. Unraveling the paradoxes of plant hormone signaling integration // Nat. Struct. Mol. Biol. – 2010. – V. 17. – P. 642-645.
- Kang J., Hwang J., Lee M., Kim Y., Assmann S.M., Martinoia E., Lee Y. PDR-type ABC transporter mediates cellular uptake of the phytohormone abscisic acid // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – V. 107. – P. 2355-2360.
- Karadeniz A., Topcuoğlu Ş., Finan C.E. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2006. – V. 22. – P. 1061-1064.
- 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. – V. 11, № 4. – P. 91-99.
- Kosakivska I.V., Voytenko L.V., Likhnyovskiy R.V., Ustinova A.Y. Effect of temperature on accumulation of abscisic acid and indole-3-acetic acid in *Triticum aestivum* L. seedling // Genet. Plant Physiol. – 2014. – V. 4, № 3-4. – P. 201-208.
- Kuromori T., Miyaji T., Yabuuchi H., Shimizu H., Sugimoto E., Kamiya A., Moriyama Y., Shinozaki K. ABC transporter AtABCG25 is involved in abscisic acid transport and responses // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2010. – V. 107. – P. 2361-2366.
- Libbenga K.R., van Iren F., Bogera R.J., Schraa-gLamera M.F. The role of hormones and gradients in the initiation of cortex proliferation and nodule formation in *Pisum sativum* L. // Planta. – 1973. – V. 114. – P. 29-39.
- Masciarelli O., Llanes A., Luna V. A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation // Microbiol. Res. – 2014. – V. 169. – P. 609-615.
- Murakami-Mizukami Y., Yamamoto Y., Yamaki S. Analyses of IAA and abscisic acid contents in nodules of



- soybean plants bearing VA mycorrhizas // *Soil Sci. Plant Nutr.* – 1991. – V. 37. – P. 291-298.
- Nejad A.R., van Meeteren U. The role of abscisic acid in disturbed stomatal response characteristics of *Tradescantia virginiana* during growth at high relative air humidity // *J. Exp. Bot.* – 2007. – V. 58. – P. 627-636.
- Osakabe Y., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Tran L.S. ABA control of plant macroelement membrane transport systems in response to water deficit and high salinity // *New Phytol.* – 2014. – V. 202. – P. 35-49.
- Park Y.G., Mun B.G., Kang S.M., Hussain A., Shahzad R., Seo C.W., Kim A.Y., Lee S.U., Oh K.Y., Lee D.Y., Lee I.J., Yun B.W. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones // *PLoS One.* – 2017. – V. 12 (3). – e0173203. Doi: 10.1371/journal.pone.0173203
- Piotrowska A., Bajguz A. Conjugates of abscisic acid, brassinosteroids, ethylene, gibberellins and jasmonates // *Phytochem.* – 2011. – V. 72. – P. 2097-2112.
- Rock C.D., Sakata Y., Quatrano R.S. Stress signaling: the role of abscisic acid (ABA) // *Abiotic stress adaptation in plants* / Eds. A. Pareek, S.A. Sopory, H.J. Bohner. – Dordrecht: Springer, 2010. – P. 33-73.
- Sakata Y., Komatsu K., Takezawa D. ABA as a Universal Plant Hormone // *Progress in Botany, 75* / Eds. U. Lüttge et al. – Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2014. – P. 57-96.
- Sgroi V., Cassán F., Masciarelli O., Del Papa M.F., Lagares A., Luna V. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGPB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2009. – V. 85. – P. 371-381.
- Stec N., Banasiak J., Jasiński M. Abscisic acid – an overlooked player in plant-microbe symbioses formation? // *Acta Biochim. Polonica.* – 2016. – V. 63, № 2015\_1210. – P. 1-6.
- Sun J., Cardoza V., Mitchell D.M., Bright L., Oldroyd G., Harris J.M. Crosstalk between Jasmonic acid, ethylene and Nod factor signaling allows integration of diverse inputs for regulation of nodulation // *Plant J.* – 2006. – V. 46. – P. 961-970.
- Takezawa D., Komatsu K., Sakata Y. ABA in bryophytes: how a universal growth regulator in life became a plant hormone? // *J. Plant Res.* – 2011. – V. 124. – P. 437-453.
- Tominaga A., Nagata M., Futsuki K., Abe H., Uchiyumi T., Abe M., Kucho K., Hashiguchi M., Akashi R., Hirsch A.M., Arima S., Suzuki A. Enhanced nodulation and nitrogen fixation in the abscisic acid low-sensitive mutant enhanced nitrogen fixation1 of *Lotus japonicus* // *Plant Physiol.* – 2009. – V. 151. – P. 1965-1976.
- Tominaga A., Nagata M., Futsuki K., Abe H., Uchiyumi T., Abe M., Kucho K., Hashiguchi M., Akashi R., Hirsch A., Arima S., Suzuki F. Effect of abscisic acid on symbiotic nitrogen fixation activity in the root nodules of *Lotus japonicus* // *Plant Signal. Behav.* – 2010. – V. 5. – P. 440-443.
- Tsavkelova E.A., Klimova S.Yu., Cherdyntseva T.A., Netrusov A.I. Hormones and hormone-like substances of microorganisms: A review // *Appl. Biochem. Microbiol.* – 2006. – V. 42. – P. 229-235.
- Umezawa T., Nakashima K., Miyakawa T., Kuromori T., Masaru Tanokura T., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Molecular basis of the core regulatory network in ABA responses: Sensing, signaling and transport // *Plant Cell Physiol.* – 2010. – V. 51. – P. 1821-1839.
- Wilkinson S., Davies W.J. Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community // *Plant Cell Environ.* – 2010. – V. 33. – P. 510-525.

Надійшла до редакції  
19.07.2017 р.

**EFFECT OF HYPERTHERMIA ON ACCUMULATION AND LOCALIZATION OF ABSCISIC ACID IN VARIETIES OF *GLYCINE MAX* (L.) MERR. DIFFERING IN RESISTANCE TO ABIOTIC STRESSORS**

I. V. Kosakivska, L. V. Voytenko, K. M. Yarotska

*M.G. Kholodny Institute of Botany  
of National Academy of Sciences of Ukraine  
(Kyiv, Ukraine)  
E-mail: phytohormonology@ukr.net*

Effects of a short-term heat stress (40°C, 2 hours) on the content of free and conjugated forms of ABA in the overground part and roots of the two *Glycine max* (L.) Merr varieties that differed in their resistance to abiotic stressors were studied using the high-performance liquid chromatography and mass spectrometry technique (HPLC MS). It was shown that under control conditions in organs

## **ВПЛИВ ГІПЕРТЕРМІЇ НА ХАРАКТЕР АКУМУЛЯЦІЇ**

of 35-day-old plants of the cold-resistant variety Podilska 416 and drought-resistant variety KiVin, grown from seeds inoculated with an active strain of nitrogen-fixing bacterium *Bradyrhizobium japonicum* 634b and noninoculated seeds, the free ABA form dominated with the exception of shoots of the drought-resistant variety KiVin. A non-specific response to hyperthermia was some increase in the endogenous ABA content in roots of both studied varieties and in the over-ground part of the KiVin variety. Presence of nitrogen-fixing nodules on the roots of both soybean varieties positively affected the hormone free form accumulation under hyperthermia conditions. The most pronounced changes in the ABA content during hyperthermia were observed in plants of the drought-resistant KiVin variety. Ability of the KiVin variety shoots to accumulate endogenous ABA as a result of high temperature effects corresponds to the variety drought resistance and is a component of the response forming during the first phase of the adaptation syndrome alarm. A possibility of rhizosphere nitrogen-fixing microorganisms to effect on the pattern of endogenous ABA accumulation in roots of soybean plants is discussed.

**Key words:** *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, *abscisic acid*, *hyperthermia*

## **ВЛИЯНИЕ ГИПЕРТЕРМИИ НА ХАРАКТЕР АККУМУЛЯЦИИ И ЛОКАЛИЗАЦИЮ АБСЦИЗОВОЙ КИСЛОТЫ У СОРТОВ *GLYCINE MAX* (L.) MERR., РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОРАМ**

И. В. Косаковская, Л. В. Войтенко, Е. Н. Яроцкая

*Институт ботаники им. Н.Г. Холодного  
Национальной академии наук Украины  
(Киев, Украина)*

*E-mail: phytohormonology@ukr.net*

Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) изучено влияние кратковременного теплового стресса (40°C, 2 ч) на содержание свободной и конъюгированной форм абсцизовой кислоты (АБК) в надземной части и корнях двух сортов *Glycine max* (L.) Merr. с разной устойчивостью к абиотическим стрессорам. Показано, что в органах 35-дневных растений холодоустойчивого сорта Подольская 416 и засухоустойчивого сорта КиВин, выращенных из инокулированных активным штаммом азотфиксирующих бактерий *Bradyrhizobium japonicum* 634b и из неинокулированных семян, в контрольных условиях доминировала свободная форма АБК, за исключением побегов засухоустойчивого сорта КиВин. Неспецифической реакцией-ответом на гипертермию оказалось увеличение содержания эндогенной АБК в корнях обоих исследуемых сортов и надземной части сорта КиВин. Присутствие азотфиксирующих клубеньков на корнях обоих сортов сои положительно влияло на накопление свободной формы гормона в условиях гипертермии. Наиболее выраженные изменения содержания АБК в условиях гипертермии наблюдались у растений засухоустойчивого сорта КиВин. Способность к аккумуляции эндогенной АБК в побегах сорта КиВин при гипертермии соответствует засухоустойчивости сорта и рассматривается как составляющая реакции-ответа, формирующегося на начальных этапах действия стрессора. Обсуждается возможность влияния ризосферных азотфиксирующих микроорганизмов на характер накопления эндогенной АБК в корнях растений сои.

**Ключевые слова:** *Glycine max*, *Bradyrhizobium japonicum*, *абсцизовая кислота*, *гипертермия*