

<https://doi.org/10.15407/frg2023.01.025>

УДК 581.143:577.175.1

ЛОКАЛІЗАЦІЯ І ДИНАМІКА ЦИТОКІНІНІВ У РОСЛИН ЖИТА ЗА УМОВ ОХОЛОДЖЕННЯ І ПРАЙМУВАННЯ ЗЕРНІВОК ЗЕАТИНОМ

Н.П. ВЕДЕНИЧОВА, М.М. ЩЕРБАТЮК, І.В. КОСАКІВСЬКА

*Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України
01601 Київ, вул. Терещенківська, 2
e-mail: vedenicheva@ukr.net*

Різка похолодання під час ранніх етапів розвитку рослин вкрай небезпечно навіть для холодостійких культур, до яких належать озимі злаки, зокрема жито. Ключову роль у регуляції відповіді рослин на низькотемпературний стрес відіграють фітогормони родини цитокінінів. Перспективним способом поліпшення стресостійкості злакових культур є праймування насіння розчинами цитокінінів. Метою роботи було дослідження впливу охолодження на динаміку і локалізацію цитокінінів у рослин жита сорту Богуславка на ранніх стадіях розвитку, з'ясування можливості подолання шкідливих наслідків холодового стресу праймуванням зернівок розчином зеатину і визначення дії цієї речовини на баланс ендогенних цитокінінів. Зернівки замочували у воді або розчині 10^{-6} М зеатину. Рослини вирощували в умовах вегетаційної камери. Охолодження створювали перенесенням 7-добових рослин у холодильну камеру на 2 години при 2°C або двічі по 6 год упродовж 2 діб. Ендогенні цитокініни визначали методом ВЕРХ-МС. Встановлено, що при охолодженні до 2°C протягом 2 годин за відсутності морфологічних змін відбувається істотна перебудова цитокінінового пулу. В надземній частині рослин, що вирости із замочених у воді зернівок, значно зростав вміст *транс*-зеатину і *транс*-зеатинрибозиду, тоді як у коренях — різко знижувався. Триваліше охолодження спричиняло гальмування росту надземної частини і видовження коренів. У надземній частині при цьому рівень *транс*-зеатину, ізопентеніладенозину й ізопентеніладеніну знижувався до мінімальних значень, а *транс*-зеатинрибозиду зростав майже удвічі. Трансформації цитокінінового пулу в коренях були аналогічні. Загалом за впливу холодового стресу на стадії тривоги перетворення балансу цитокінінів сприяє ростовим процесам, на стадії ж аклімації — гальмує їх. Передпосівне праймування зернівок жита розчином зеатину давало рослинам можливість підтримувати нормальний ріст і морфологію за умов пролонгованого охолодження. Така обробка істотно позначалася на гомеостазі ендогенних цитокінінів, у результаті чого за дії низької температури перебудова цитокінінового пулу стресованих рослин мала помірніший характер, ніж у контролі. Ми припускаємо, що зміни у балансі цитокінінів внаслідок праймування зернівок сприяють поліпшенню холодостійкості рослин. Обробку насіння цитокінінами можна використовувати як спосіб підвищення адаптивних властивостей рослин.

Ключові слова: *Secale cereale* L., цитокініни, адаптація, ріст, холодовий стрес, праймування зернівок.

Цитування: Веденичова Н.П., Щербатюк М.М., Косаківська І.В. Локалізація і динаміка цитокінінів у рослин жита за умов охолодження і праймування зернівок зеатином. *Фізіологія рослин і генетика*. 2023. 55, № 1. С. 74–89. <https://doi.org/10.15407/frg2023.01.074>

Одним із негативних наслідків глобальних змін клімату є підвищення середніх температур осінніх місяців, що супроводжується короткотривалими нічними заморозками. Це негативно позначається на рості й продуктивності аграрних культур і призводить до значних втрат урожаю. Низькотемпературний стрес спричинює ушкодження рослин на біохімічному й ультраструктурному рівнях [1]. Озимі злаки вирізняються високою холодостійкістю і навіть потребують тривалого періоду верналізації для переходу до репродукції навесні [2]. Проте на ранніх етапах розвитку проростків різке похолодання вкрай небезпечне, оскільки спричинює каскад порушень, таких як зменшення цілісності мембран, витік іонів, гальмування фотосинтезу і дихання, зниження ферментативної активності й вуглеводного обміну, сповільнення поглинання води й поживних речовин, транспорту асимілятів, окиснювальний стрес тощо [3]. Однією з перспективних і невибагливих до родючості ґрунтів зернових культур є жито (*Secale cereale* L.), зернівки якого надзвичайно багаті на цінні поживні речовини (білки, жири, амінокислоти, клітковину, вітаміни, мінерали й антиоксиданти) [4, 5]. Рослини *S. cereale* холодостійкіші порівняно з іншими зерновими культурами. Хоча оптимум для росту становить 16–22 °С, проростання і кушіння може відбуватися за температури нижче 5 °С [6]. Однак навіть нетривалий вплив низьких температур на незагартовані проростки може бути згубним і призвести до летального результату або негативно позначитися на подальшому розвитку рослин [7, 8].

Ключову роль у регуляції формування відповіді рослин на низькотемпературний стрес відіграють фітогормони, серед яких важливе місце посідають цитокініни [9, 10]. Фітогормони цього класу задіяні у контролі практично всіх життєвих функцій рослинного організму, включаючи адаптацію до абіотичних стресів [11]. Метаболізм і трансдукція цитокінінових сигналів у злаків має певні особливості, пов'язані, вірогідно, з функціонуванням високоспецифічних білків-промоторів, задіяних у керуванні активністю генів [12]. Повідомлялося, що за умов охолодження гальмується біосинтез і сигналінг цитокінінів у злаків, зокрема рису [13]. Холодовий стрес призводить до швидкого зниження вмісту біоактивних цитокінінів у листках озимої пшениці з подальшим відновленням у процесі аклімації [14], однак у ярої пшениці ця відповідь слабша й повільніша [15]. Порівняння генотипів пшениці з різною морозостійкістю показало, що зменшення вмісту активних форм цитокінінів у відповідь на холододовий шок відбувається лише у рослин з високим рівнем стійкості [16]. Водночас участь зеатину в реакції на охолодження не виявлено у рису [13] і кукурудзи [17], а у пшениці активується ген, що кодує ізопентенілтрансферазу — ключовий фермент біосинтезу цитокінінів [16]. Суперечливість отриманих результатів засвідчує складність регуляторних механізмів адаптації злаків до холододового стресу, а роль цитокінінів у них залишається нез'ясованою. Дослідження 96 генотипів жита показало, що зимова виживаність рослин пов'язана з кількістю листкових зачатків апікальної меристеми пагона під час холододової аклімації, яку регулюють фітогормони [18]. Проте участь цитокінінів у цій регуляції практично не досліджена.

Для подолання негативних наслідків абіотичних стресів у злаків і зменшення втрат урожаю застосовують обробку фітогормонами [19], що дає можливість запобігати виляганню та передчасному старінню, синхронізує дозрівання зерна, поліпшує якісні й кількісні характеристики агропродукції [20]. Зручним і перспективним способом для поліпшення стресостійкості злакових культур є праймування насіння — передпосівне нанесення регуляторів росту, що впливає на метаболізм рослин і допомагає їм подолати вплив негативних чинників навколишнього середовища [21]. Однак механізми дії цитокинінів у цьому процесі детально не вивчені.

Враховуючи вищенаведене, ми поставили за мету дослідити вплив охолодження на динаміку і локалізацію цитокинінів у рослин жита на ранніх стадіях розвитку, з'ясувати можливість подолання шкідливих наслідків холодостресу праймуванням насіння розчином зеатину і визначити дію цієї речовини на баланс ендогенних цитокинінів.

Методика

Експерименти проводили в 2021—2022 рр. з рослинами озимого жита *Secale cereale* L. холодостійкого сорту Богуславка. Насінневий матеріал отримано з колекції Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. Відкалібровані вимиті зернівки стерилізували у 80 %-му розчині етанолу, промивали дистильованою водою і розподіляли на дві групи. Першу групу замочували у водному розчині 10^{-6} М зеатину, другу — у дистильованій воді на 3 год. Після набухання зернівки з обох груп промивали у воді та пророщували на вологому фільтрувальному папері у чашках Петрі в умовах кліматичної камери Votsch (Balingen, Germany) за температури $16\text{ }^{\circ}\text{C}$ та інтенсивності освітлення $190\text{ мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$ (фотоперіод 16/8 год, день/ніч). Вологість повітря — 60 %. Після прокльовування зернівки висаджували у пластикові ємності з 1,5 л прожареного річкового піску і вирощували у кліматичній камері за таких самих умов. Поливали щоденно 50 мл розчину Кнопа на одну ємність. Через 7 діб рослини, що були вирощені з зернівок обох груп, піддавали холодостресу. У першому варіанті дослідження ємності переносили в холодильну камеру з температурою повітря $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 2 год у темряві (в нічний час). У другому варіанті дослідження ємності з 7-добовими рослинами залишали в холодильній камері за температури повітря $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 6 год у темряві на 7- і 8-му доби вирощування. Контрольні рослини залишалися у кліматичній камері за початкових умов. Фіксацію надземної частини і коренів здійснювали на 7-му і 9-ту доби експерименту заморожуванням у морозильній камері за температури $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Процедури виділення й очищення цитокинінів з проростків жита ми описали раніше [22]. Остаточний аналіз якісного складу і кількісного вмісту цитокинінів проводили методом високоефективної рідинної хроматографії на рідинному хроматографі Agilent 1200 LC із діодно-матричним детектором G 1315 B (США). Аналітична довжина хвилі детектора — 269 нм, ширина смуги пропускання — 16 нм, діапазон сканування спектра — 207—400 нм. Аліквоти очищених екс-

трактів об'ємом 20 мкл пропускали крізь колонку Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18, 4,6 · 250 мм, заповнену часточками ліпофільно-модифікованого сорбенту розміром 5 мкм. Елюцію проводили у ступінчастій градієнтній системі розчинників метанол : вода : оцтова кислота за схемою: 0 хв CH₃OH/0,5 %-й розчин CH₃COOH в деіонізованій воді (37/63) → 25 хв CH₃OH/0,5 %-й розчин CH₃COOH (70/30) → 35 хв CH₃OH/0,5 %-й розчин CH₃COOH (100/0) з постійною швидкістю потоку 0,5 мл/хв. Як маркери і хімічні стандарти під час хроматографії і побудови калібрувальних таблиць використовували розчини *транс*-зеатину, *транс*-зеатинрибозиду, ізопентеніладеніну, ізопентеніладенозину та *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду (Sigma, США). Наявність речовин-аналітів у пробах контролювали за допомогою одноквадрупольного мас-спектрометра G612A в комбінованому режимі роботи (електроспрей і хімічна іонізація за атмосферного тиску) за позитивної іонізації молекул.

Аналізували і обробляли хроматограми за допомогою програмного забезпечення Chem Station, версія B.03.01 у режимі on line.

Досліди проводили в триразовому біологічному та п'ятиразовому аналітичному повторах. Результати обробляли статистично ($p \leq 0,05$) з використанням програми Microsoft Excel 2003.

Результати та обговорення

На початку експерименту різниця між висотою надземної частини 7-добових проростків, які виростили із замоченого у воді насіння і того, що замочували у розчині зеатину, була дуже незначною, у межах похибки. Водночас обробка зеатином позначилася на довжині коренів останніх, яка була майже на 20 % меншою порівняно з контролем (рис. 1). Крім того, за дії зеатину зменшувалася розгалуженість кореневої системи.

Як відомо, кінчики коренів є однією з основних ділянок синтезу цитокінінів у рослин [23]. Екзогенне застосування цитокінінів має як наслідок підвищення ендогенного рівня гормону, яке негативно позначається на рості аксіального кореня і формуванні бічних коренів [24]. Отже, отримані нами результати узгоджуються з сучасними поглядами, що цитокініни є негативним регулятором розвитку кореневої системи. Щодо росту надземної частини рослин, цитокініни є важливим чинником формування апікальних меристем пагонів, проте відомості стосовно впливу рівня екзогенних гормонів на морфологію обмежуються даними, отриманими на цитокінін-дефіцитних мутантах і при мікроклональному розмноженні рослин [25]. Стимуляція росту надземної частини рослин за обробки цитокінінами достовірно не встановлена.

Короткотривала експозиція на холоді (2 год при 2 °С) не позначилася на ростових параметрах рослин. За цей період приріст контрольних рослин за температури 16 °С також не був візуально помітним (див. на рис. 1 результати вимірювання нестресованих рослин). Водночас, перебудова цитокінінового пулу стресованих рослин була доволі істотною. В надземній частині рослин, що виростили з замоченого у воді насіння вміст *транс*-зеатину після стресу збільшувався у

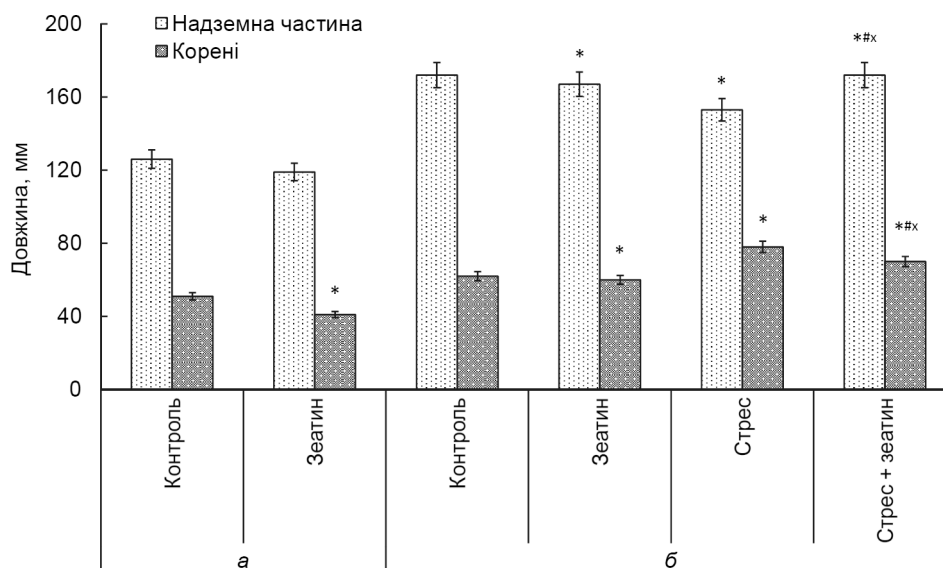


Рис. 1. Вплив короткотривалого охолодження (2 °С) і праймування зеатином на довжину надземної частини і коренів рослин жита. На рисунку представлено параметри 7-добових нестресованих рослин, які не відрізнялися від таких після 2 год холододового стресу (а) і 9-добових рослин (б).

Тут і на рис. 2–5: * $p \leq 0,05$ порівняно з контрольними рослинами; # $p \leq 0,05$ порівняно з рослинами, що виростили із зернівок, праймованих розчином зеатину; x $p \leq 0,05$ порівняно зі стресованими рослинами, що виростили із непраймованих зернівок.

7 разів, а *транс*-зеатинрибозиду — у 3 рази. Рівень ізопентенільних форм цитокінінів падав до мінімальних значень, а *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду — зменшувався у 2 рази (рис. 2). У надземній частині рослин, що виростили з насіння, праймованого розчином зеатину, зміни в концентрації зеатинових форм цитокінінів були виражені значно менше. Так, рівень *транс*-зеатину зростав на 44 %, а *транс*-зеатинрибозиду — на 25 %. Збільшувався також вміст ізопентеніладеніну (більш як у 3 рази), а вміст *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду зменшувався не істотно (див. рис. 2).

Динаміка цитокінінів у коренях контрольних рослин за короткотривалого охолодження була зовсім іншою, ніж у надземній частині. Рівень *транс*-зеатину і *транс*-зеатинрибозиду опускався нижче чутливості методу, кількість ізопентенільних форм цитокінінів знижувалася у 3 рази, а *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду — у 2 рази (рис. 3). Після замочування зернівок у розчині зеатину в коренях 7-добових нестресованих рослин вміст *транс*-зеатину зростав у 2,5 рази, *транс*-зеатинрибозиду — не змінювався, а рівень інших цитокінінів знижувався приблизно у 2 рази. У результаті 2-годинного охолодження баланс цитокінінів у коренях рослин, які виростили з праймованого зеатином насіння, майже не відрізнявся від стресованого контролю, за винятком *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду, вміст якого після стресу збільшився на 25 % (див. рис. 3). Таким чином, очевидно, що зміни у комплексі ендогенних цитокінінів, які відбулися внаслідок праймування зернівок зеатином, істотно не позначилися на відповіді кореневої системи жита сорту Богуславка на короткотривалий холододовий стрес.

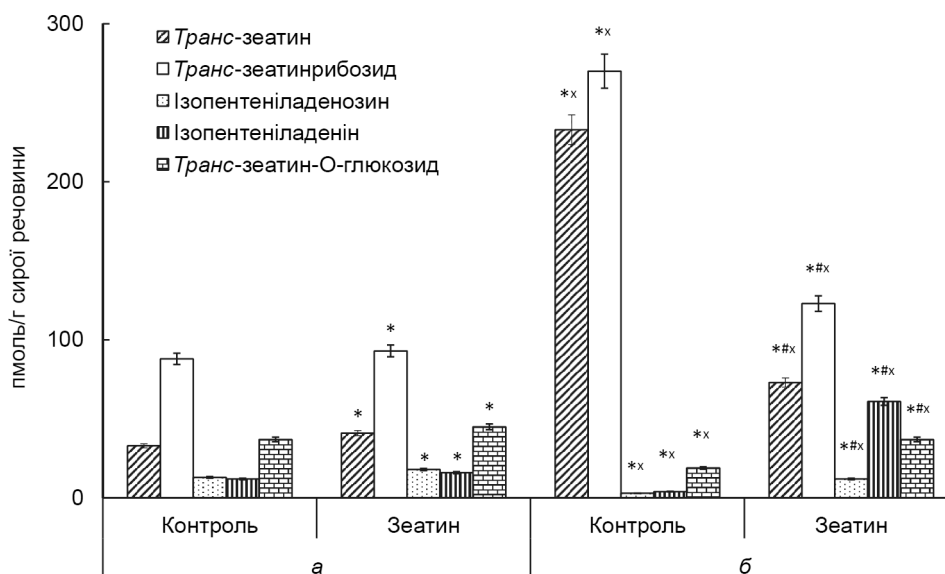


Рис. 2. Вміст цитокінінів у надземній частині 7-добових рослин жита за умов короткотривалого охолодження (2 °С) протягом 2 год без стресу (а) та після холодного стресу (б)

Отже, впродовж 2-годинного холодного стресу відбувалася значна перебудова балансу цитокінінів у надземній частині та коренях рослин жита. Зміни у ростовій активності рослин у цей період не відбувалися. Відповідь рослин на будь-який абіотичний стрес тривалістю до 24 год розглядається як стадія тривоги, під час якої активується сигнальна система, а трансдукція відповідних сигналів змінює експресію генів і, таким чином, біосинтез білків [26]. Участь цитокінінів у формуванні сигнального каскаду у стадії тривоги за абіотичних стресів не викликає сумнівів [27, 28], але результати дослідження перетворень цитокінінового пулу при цьому часто суперечливі. Встановлено, що 15-хвилинне охолодження коренів проростків озимої пшениці призводило до різкого зниження вмісту цитокінінів у листках внаслідок посилення активності цитокініноксидази [29]. При експозиції проростків кукурудзи за 10 °С від 15 до 30 год не було виявлено концентраційних змін зеатину [17].

Холодовий шок упродовж 24 год спричиняв зменшення вмісту *транс*-зеатину, ізопентеніладеніну й дигідрозеатину в листках озимої пшениці, тоді як в листках ярої пшениці відбувалося значне підвищення рівня *цис*-зеатину й дигідрозеатину [16, 30]. При цьому зниження вмісту активних форм цитокінінів відбувалося лише в листках озимої пшениці, але не в коренях [14]. У праці [13] встановлено, що охолодження (4 °С) протягом доби призводило до зменшення рівня *транс*-зеатину й ізопентеніладеніну в надземній частині арабідопсису, тоді як в надземній частині рослин рису знижувався рівень лише *транс*-зеатинрибозид-5'-фосфату, рівень ізопентеніладеніну залишався високим. У цих експериментах також показано холодове репресування генів *CYP735A3* і *CYP735A4*, що кодують цитокінін-трансгідролазу, відповідальну за біосинтез активних форм цитокінінів [13]. Ми зафіксували зростання вмісту *транс*-зеатину і *транс*-зеатинрибозиду

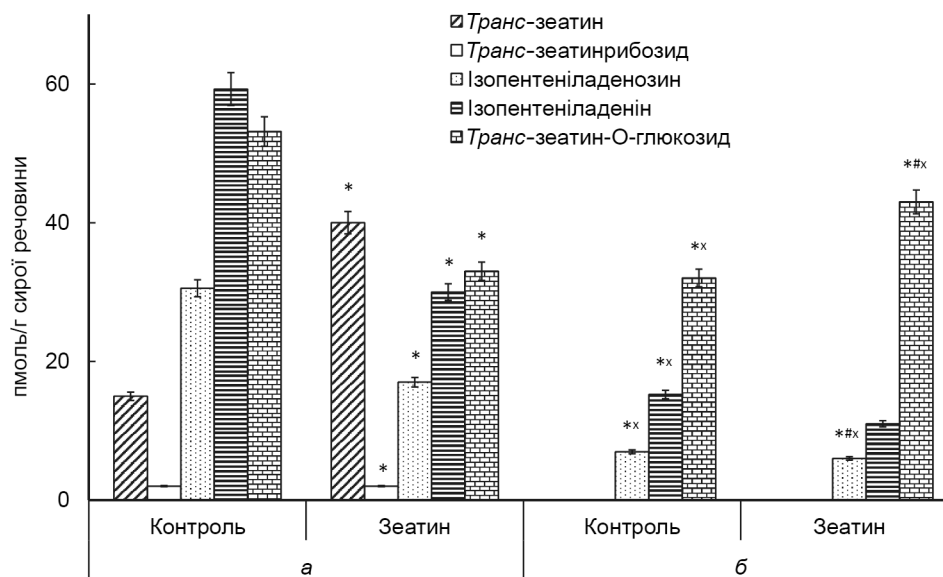


Рис. 3. Вміст цитокінінів у коренях 7-добових рослин жита за умов короткотривалого охолодження (2 °С) протягом 2 год без стресу (а) та після холодного стресу (б)

в надземній частині рослин жита і синхронне його зниження в коренях за умов 2-годинного охолодження. Відомо, що цитокініни зеатинового типу в пагонах сприяють поділу клітин і розвитку апікальної меристеми, а в коренях діють як інгібітор росту, стимулюють диференціацію клітин у апікальній меристемі кореня [23].

Отже, виявлена нами динаміка зеатинових форм у рослинах жита на стадії тривоги за холодного стресу спрямована на підтримання інтенсивних ростових процесів у цей короткий період. Подібні зміни у вмісті активних форм цитокінінів зафіксовано в листках і коренях арабідопсису в перші 30 хв теплового шоку (+40 °С) [31], тому можна припустити, що подібна реакція гормональної системи на температурний стрес є неспецифічною. Зменшення вмісту ізопентеніладеніну, який є первинним продуктом біосинтезу цитокінінів, у надземній частині та коренях жита під час охолодження вказує на гальмування біосинтезу цитокінінів. Підвищення концентрації зеатинових гормонів у надземній частині, вірогідно, відбувається за рахунок гідролізу *транс*-зеатин-*О*-глюкозиду, який виконує функцію «депо» для них і за необхідності легко розщеплюється β-глюкозидазою з вивільненням активних форм цитокінінів [32].

Зміни лінійних розмірів рослин жита ми зафіксували за 2 доби експерименту. Так, надземна частина контрольних 9-добових рослин збільшилася на 34 %, коренів — на 17 % порівняно з 7-добовими. У рослин, які виростили з праймованого зеатином насіння лінійні параметри пратично не відрізнялись від контрольних. Експозиція на холоді упродовж 2 діб по 6 год позначилася на ростових характеристиках рослин жита (див. рис. 1). Висота надземної частини зменшилася на 12 %, а довжина коренів — збільшилася на 21 % відносно рослин, залишених усі 9 діб за температури 16 °С. Змінилися пропорції рослин: співвідношення лінійних розмірів надземної частини і коренів у

контролі становило 2 : 8, після 2-добової експозиції на холоді — 1 : 9. Отже, охолодження негативно впливає на ріст надземної частини, стимулюючи при цьому видовження коренів. Відомо, що низькі температури чинять швидкий ріст-інгібувальний ефект на теплолюбні рослини, тоді як у холодостійких стійке гальмування росту відбувається за тривалішої дії холоду, а тимчасове охолодження призводить до аклімації, що дозволяє їм виживати при заморозках [33]. Темпи зниження біомаси під час охолодження залежать від холодостійкості навіть у межах одного виду рослин: у холодостійкого сорту рису довжина і маса коренів зменшувалися значно менше, ніж у чутливого до холоду сорту за 10 діб при 10 °С [34]. У наших дослідженнях рослини холодостійкого сорту жита реагували на 2-добове охолодження гальмуванням росту лише надземної частини, а реакція коренів була подібною до відповіді рослин на посуху. Відомо, що за нестачі вологи на початкових етапах корені у багатьох видів рослин видовжуються [35]. Раніше було встановлено, що при холодовому стресі у рису знижується поглинальна здатність коренів, що виявляється у зменшенні відносної обводненості тканин [36]. Це пояснює інтенсифікацію росту коренів, яку ми спостерігали у дослідях з рослинами жита. Вочевидь, зменшення поглинання води при охолодженні спонукало корені до видовження у пошуках джерела вологи. Зменшення розгалуженості кореневої системи, зафіксоване при цьому, також є реакцією на водний дефіцит. Раніше лімітоване утворення латеральних коренів було встановлено у рослин арабідопсису за припинення поливу [37].

У контрольних 9-добових рослин жита змінився баланс ендогенних цитокінінів порівняно з 7-добовими, зокрема, кількість *транс*-зеатинрибозиду значно зросла, а ізопентенільних форм гормону — зменшилася як в надземній частині, так і коренях (див. рис. 2—5). Після дворазової експозиції на холоді у надземній частині рослин жита рівень *транс*-зеатину, ізопентеніладенозину й ізопентеніладеніну знизився до мінімальних значень, *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду — майже у 2 рази, тоді як *транс*-зеатинрибозиду — підвищився на 87 % (рис. 4). Аналогічний характер трансформацій цитокінінового пулу виявлено в коренях, крім ізопентеніладеніну, рівень якого залишився без змін (рис. 5). Після праймування зернівок зеатином у рослин жита на 9-ту добу росту зберігався видозмінений баланс цитокінінів. Як надземна частина, так і корені рослин, що виростили із замоченого у цитокініні насіння, мали підвищений вміст *транс*-зеатину і *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду, а також знижений рівень *транс*-зеатинрибозиду. Реакція гормональної системи рослин на пролонгований холодний стрес відрізнялася передусім відсутністю піку *транс*-зеатинрибозиду, рівень якого, навпаки, різко знижувався у всій рослині. При цьому у надземній частині рослин вміст *транс*-зеатину залишався майже таким, як у нестресованому контролі і у нестресованих рослин, що виростили з праймованих зеатином зернівок, на відміну від стресованого контролю, де він зменшувався. У коренях праймування зернівок сприяло підтриманню концентрації ізопентеніладеніну й *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду на рівні, близькому до не-

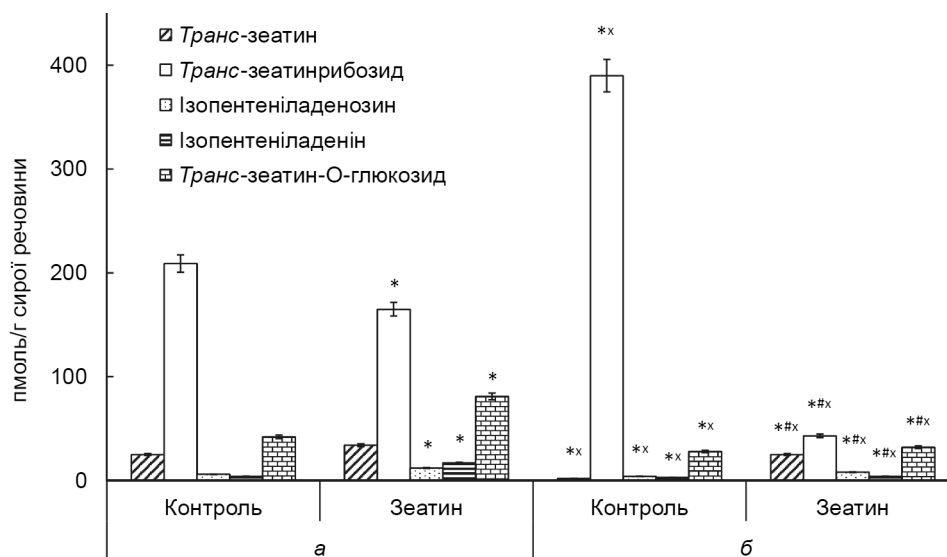


Рис. 4. Вміст цитокінінів у надземній частині 9-добових рослин жита після двоступеневого охолодження (2 °С) протягом 2 діб по 6 год: без стресу (а) та після холодового стресу (б)

стресованих рослин, тоді як вміст *транс*-зеатину зменшувався подібно до стресованих. Загалом праймування зернівок зеатином модифікувало баланс ендогенних цитокінінів як до стресу, так і після нього.

Відповідь рослин на стрес, що триває понад добу, відносять до стадії аклімації, впродовж якої активно синтезуються стресові білки, змінюються щільність мембран та енергетичний метаболізм [26]. Такі зміни, що зазвичай негативно позначаються на морфології рослин,

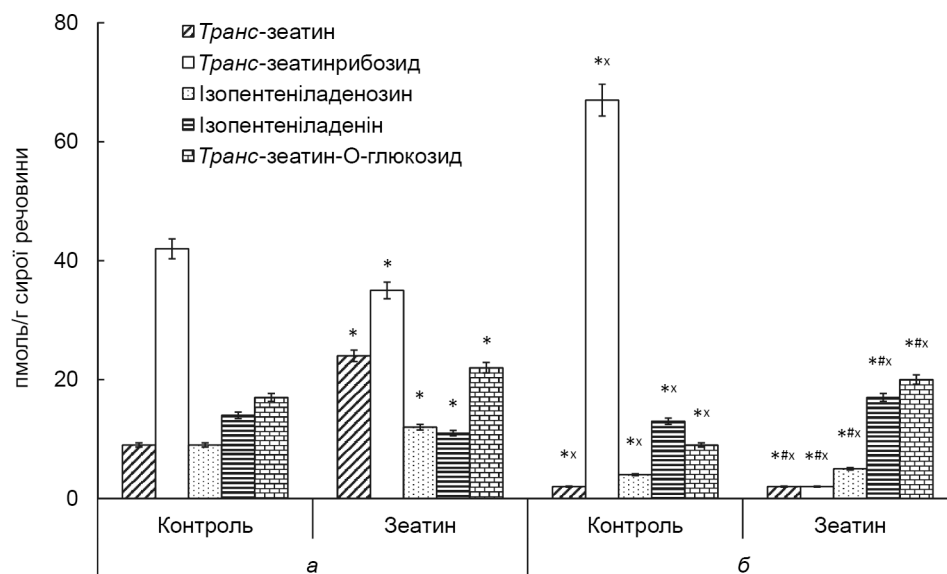


Рис. 5. Вміст цитокінінів у коренях 9-добових рослин жита після двоступеневого охолодження (2 °С) протягом 2 діб по 6 год: без стресу (а) та після холодового стресу (б)

зумовлені стресовою трансформацією гормональної системи [38]. У наших експериментах гальмування росту надземної частини і видовження кореня рослин жита за 2-добового впливу низької температури відбувалося на тлі зниження вмісту *транс*-зеатину, ізопентеніладенозину й ізопентеніладеніну, що повністю узгоджується із сучасними поглядами на протилежні функції цитокінінів у різних частинах рослин [12]. У роботах інших авторів результати вивчення динаміки цитокінінів на стадії аклімації були суперечливими. У холодостійкого сорту томатів зниження температури до 10 °С упродовж 3 діб призвело до дворазового збільшення вмісту зеатин-подібних цитокінінів у листках, а у чутливого сорту — до триразового [39]. Охолодження рослин арабідопсису до 5 °С упродовж 7 діб спричинило падіння рівнів *транс*-зеатину і *транс*-зеатинрибозиду внаслідок посилення активності цитокінінооксидази в пагонах і листках, водночас у коренях вміст цитокінінів дещо підвищувався [40]. Аклімація рослин ячменю за таких самих умов супроводжувалася зниженням вмісту *транс*-зеатину і збільшенням кількості *цис*-зеатину в листках [41]. У листках і коренях озимої пшениці (*Triticum monosocum* L.) у період аклімації за 4 °С рівень активних форм цитокінінів різко зростав після падіння на стадії тривоги, у ярої лінії цієї пшениці динаміка цитокінінів була подібною, але значно менше вираженою [14]. Аклімація рослин *Carpobrotus edulis* за 5 °С призводила до зниження рівня *транс*-зеатину і *транс*-зеатинрибозиду [42]. На думку деяких авторів, реакція цитокінінового пулу на вплив низької температури значною мірою залежить від сорту рослин, а саме, від його холодостійкості [15, 16]. Баланс цитокінінів в органах рослин жита на стадії аклімації до холоду у наших дослідах, зокрема низький рівень активних форм *транс*-зеатину й ізопентеніладеніну в надземній частині та високий вміст ізопентеніладеніну в коренях, вочевидь, знижував ростову активність рослини загалом, а отже, й зберігав енергетичні ресурси організму для подолання негативної дії стресу (для синтезу захисних білків, активації антиоксидантної системи тощо) [43]. Підкреслимо, що вміст *транс*-зеатинрибозиду збільшувався як у надземній частині, так і в коренях рослин жита у період холодової аклімації, що засвідчує його участь у генезисі механізмів пристосування до холоду. Деякі дослідники вважають цей цитокінін транспортною формою гормону, яка виявляє біологічну активність лише внаслідок вивільнення зеатину після її розщеплення [44], проте ми підтримуємо точку зору інших вчених, які підкреслюють важливість рибозидів для регуляції розвитку і відповідей рослин на абіотичні стреси [45]. Нещодавно важливість рибозильованих метаболітів цитокінінів для формування холодостійкості встановлено під час дослідження рослин *Zanthoxylum bungeanum* [46]. Можна припустити, що підвищення рівня *транс*-зеатинрибозиду в рослинах жита на стадії аклімації відбувалося за рахунок біохімічних перетворень легкорозщеплювального кон'югату *транс*-зеатин-*O*-глюкозиду, вміст якого синхронно знижувався на холоді.

Зазначимо, що в наших експериментах рослини жита піддавали охолодженню у темряві, оскільки у природних умовах саме вночі

відбуваються різкі похолодання. Відомо, що світло відіграє важливу роль у сприйнятті й трансдукції сигналів навколишнього середовища, в тому числі у формуванні відповіді рослин на холодний стрес [47]. В арабідопсису комбінація холоду і темряви повністю пригнічувала ріст, що супроводжувалося істотним зниженням рівня цитокінінів [40]. Освітлення рослин ячменю далеким червоним або синім світлом стимулювало холодостійкість, що пов'язано з дисбалансом ендогенних фітогормонів. Зокрема, за освітлення далеким червоним світлом зростав рівень *цис*-зеатину [41], а за дії синього світла вміст цього цитокініну знижувався і накопичувався кон'югат *цис*-зеатин-*O*-глюкозид [48]. На жаль, у більшості досліджень роль освітлення не враховують, що певною мірою пояснює розбіжності отриманих результатів й ускладнює їх обговорення.

Рослини, які виростили з праймованого розчином зеатину насіння, після пролонгованого охолодження за лінійними параметрами майже не відрізнялися від контролю. У них були відсутні ті морфологічні зміни, які спостерігалися після стресу у рослин, що розвивалися із замоченого у воді насіння (див. рис. 1). Зміни у балансі цитокінінів при цьому значно відрізнялися від зафіксованих у рослин без попереднього праймування. Так, у надземній частині вміст *транс*-зеатину, ізопентеніладенозину й ізопентеніладеніну практично дорівнював такому у нестресованих рослин, але був вищим за відповідні показники стресованого контролю (див. рис. 4). Зазначимо, що рівень *транс*-зеатинрибозиду був нижчим майже у 5 разів порівняно з нестресованим контролем, і майже у 10 разів — порівняно зі стресованим. Корені рослин, які виростили з праймованого розчином зеатину насіння, реагували на охолодження майже так само, як і корені контрольних рослин, за винятком *транс*-зеатинрибозиду, концентрація якого знижувалася до мінімальних значень (див. рис. 5). Отже, передпосівне праймування насіння розчином зеатину сприяло підтриманню морфологічних й ростових показників рослин жита на незмінному рівні за умов нетривалого холодного стресу, що засвідчує набуття ними додаткової холодостійкості. З трансформацій балансу гормонів цитокінінової природи привертає увагу динаміка *транс*-зеатинрибозиду. Не виключено, що метаболізм саме цього цитокініну має відношення до регуляції стресостійкості жита.

Раніше встановлено, що модифікації балансу ендогенних цитокінінів поліпшують стійкість до низьких температур різних рослин. Так, нанесення бензиладеніну на листки пшениці підвищувало концентрацію ендогенних цитокінінів, що сприяло посиленню холодостійкості рослин [29]. Праймування насіння і фоліарна обробка рослин кукурудзи кінетином поліпшувала проростання, збільшувала індекс листової поверхні, ефективність фотосинтезу і врожай за умов охолодження [49]. Мутанти арабідопсису із більшим вмістом цитокінінів і рослини дикого типу після оброблення зеатином за умов холодного стресу характеризувалися підвищеною швидкістю росту і більшою кількістю клітин відносно контролю [50]. Надекспресія ізопентенілтрансферази, ключового ферменту біосинтезу цитокінінів, посилювала холодостійкість незагартованих рослин

Saccharum officinarum L. [51]. Відомо також, що у злаків екзогенна обробка цитокінінами стимулювала акумуляцію цих гормонів. Зокрема, обприскування колосків рису розчином БАП знижувало активність цитокініноксидази й індукувало синтез *транс*-зеатину й ізопентеніладеніну [52]. Обробка рослин озимої пшениці цією самою речовиною порушувала весь фітогормональний баланс, зокрема зростав вміст зеатинрибозиду [53]. З урахуванням цього можна припустити, що позитивний ефект праймування насіння зеатином на ріст рослин жита сорту Богуславка в умовах холодного стресу був зумовлений змінами в гомеостазі ендогенних цитокінінів. Яку ж роль відігравав при цьому *транс*-зеатинрибозид, належить з'ясувати у майбутньому.

Отже, відповідь гормональної системи рослин жита на холодний стрес є динамічним і диференційованим процесом, специфіка якого залежить від тривалості стресового навантаження та органів рослини. Досліджуючи фітогормони родини цитокінінів, ми встановили, що на стадії тривоги перетворення балансу цих гормонів спрямоване на підтримання ростових процесів як у надземній частині, так і в коренях. Триваліший вплив низької температури (стадія аклімації) спричиняє таку перебудову балансу цитокінінів, яка гальмує ростові процеси. Передпосівне праймування насіння жита розчином 10^{-6} М зеатину допомогло рослинам підтримувати нормальний ріст і морфологію за умов пролонгованого охолодження. Така обробка істотно позначалася на гомеостазі ендогенних цитокінінів, у результаті чого за дії низької температури перебудова цитокінінового пулу стресованих рослин мала помірніший характер, ніж у контролі. Ми припускаємо, що зміни у балансі цитокінінів внаслідок праймування насіння є складовою частиною перебудови гормональної системи загалом, що дає рослині змогу поліпшити витривалість і холодостійкість. Проведене нами дослідження продемонструвало важливу роль цитокінінів у формуванні відповіді рослин жита на охолодження. Отже, обробку зернівок цитокінінами можна використовувати як спосіб підвищення адаптивних властивостей рослин.

REFERENCES

1. Ritonga, F.N. & Chen, S. (2020). Physiological and molecular mechanism involved in cold stress tolerance in plants. *Plants*, 9, No. 5, p. 560. <https://doi.org/10.3390/plants9050560>
2. Deng, W., Casao, M., Wang, P., Sato, K., Hayes, P.M., Finnegan, E.J. & Trevaskis, B. (2015). Direct links between the vernalization response and other key traits of cereal crops. *Nature Communications*, 6, p. 5882. <https://doi.org/10.1038/ncomms6882>
3. Hassan, M.A., Xiang, C., Farooq, M., Muhammad, N., Yan, Z., Hui, X., Yuanyuan, K., Bruno, A.K., Lele, Z. & Jincai, L. (2021). Cold stress in wheat: plant acclimation responses and management strategies. *Frontiers in Plant Science*, 12, p. 676884. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.676884>
4. Wrigley, C. & Bushuk, W. (2017). Rye: Grain-Quality characteristics and management of quality requirements. In *Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Cereal Grains*; 2nd ed. C. Wrigley, I. Batey, D. Miskelly (Eds.). pp. (153-178), Woodhead Publishin, Sawston, UK. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100719-8.00007-3>
5. Linina, A., Augšpole, I., Romanova, I. & Kuzel, S. (2020). Winter rye (*Secale cereale* L.) antioxidant capacity, total phenolic content and quality indices. *Agronomy Research*, 18, pp. 1751-1759. <https://doi.org/10.15159/AR.20.113>

6. White, P., Cooper, H., Earnshaw, M. & Clarkson, D. (1990). Effects of low temperature on the development and morphology of rye (*Secale cereale*) and wheat (*Triticum aestivum*). *Annals of Botany*, 66, pp. 559-566. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aob.a088065>
7. Ndong, C., Danyluk, J., Huner, N.P. & Sarhan, F. (2001). Survey of gene expression in winter rye during changes in growth temperature, irradiance or excitation pressure. *Plant Molecular Biology*, 45, pp. 691-703. <https://doi.org/10.1023/A:1010684719225>
8. Kolupaev, Y.E., Horielova, E.I., Yastreb, T.O., Ryabchun, N.I. & Kirichenko, V.V. (2019). Stress-protective responses of wheat and rye seedlings whose chilling resistance was induced with a donor of hydrogen sulfide. *Russian Journal of Plant Physiology*, 66, pp. 540-547. <https://doi.org/10.1134/S1021443719040058>
9. Mandal, S., Ghorai, M., Anand, U., Samanta D., Kant, N., Mishra, T., Rahman, M.H., Jha, N.K., Jha, S.K., Lal, M.K., Tiwari, R.K., Kumar, M., Radha, Prasanth, D.A., Mane, A.B., Gopalakrishnan, A.V., Biswas, P., Prockow, J. & Dey, A. (2022). Cytokinin and abiotic stress tolerance — What has been accomplished and the way forward? *Frontiers in Genetics*, 13, p. 943025. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.943025>
10. Zhao, B., Liu, Q., Wang, B. & Yuan, F. (2021). Roles of phytohormones and their signaling pathways in leaf development and stress responses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69, No. 12, pp. 3566-3584. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c07908>
11. Cortleven, A., Leuendorf, J.E., Frank, M., Pezzetta, D., Bolt, S. & Schmölling, T. (2019). Cytokinin action in response to abiotic and biotic stress in plants. *Plant, Cell & Environment*, 42, pp. 998-1018. <https://doi.org/10.1111/pce.13494>
12. Vedenicheva, N.P. & Kosakivska, I.V. (2020). Cytokinins in cereals ontogenesis and adaptation. *Fiziolohiia roslyn i henetyka* 52, No. 1, pp. 3-30 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2020.01.003>
13. Maruyama, K., Urano, K., Yoshiwara, K., Morishita, Y., Sakurai, N., Suzuki, H., Kojima, M., Sakakibara, H., Shibata, D., Saito, K., Shinozaki, K. & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2014). Integrated analysis of the effects of cold and dehydration on rice metabolites, phytohormones, and gene transcripts. *Plant Physiology*, 164, No. 4, pp. 1759-1771. <https://doi.org/10.1104/pp.113.231720>
14. Vanková, R., Kosová, K., Dobrev, P., Vitámvás, P., Trávníčková, A., Cvikrová, M., Pešek, B., Gaudinová, A., Prerostová, S., Musilová, J., Galiba, G. & Prášil, I.T. (2014). Dynamics of cold acclimation and complex phytohormone responses in *Triticum monococcum* lines G3116 and DV92 differing in vernalization and frost tolerance level. *Environmental and Experimental Botany*, 101, pp. 12-25. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2014.01.002>
15. Kosová, K., Prášil, I.T., Vitámvás, P., Dobrev, P., Motyka, V., Floková, K., Novák, O., Turečková, V., Rolčík, J., Pešek, B., Trávníčková, A., Gaudinová, A., Galiba, G., Janda, T., Vlasáková, E., Prášilová, P. & Vanková, R. (2012). Complex phytohormone responses during the cold acclimation of two wheat cultivars differing in cold tolerance, winter Samanta and spring Sandra. *Journal of Plant Physiology*, 169, pp. 567-576. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.12.013>
16. Kalapos, B., Novak, A., Dobrev, P., Nagy, T., Vitámvás, P., Marincs, F., Galiba, G. & Vankova, R. (2017). Effects of the winter wheat Cheyenne 5A substitute chromosome on dynamics of abscisic acid and cytokinins in freezing-sensitive Chinese Spring genetic background. *Frontiers in Plant Science*, 8, p. 2033. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02033>
17. Xiang, N., Hu, J., Yan, S. & Guo, X. (2021). Plant hormones and volatiles response to temperature stress in sweet corn (*Zea mays* L.) seedlings. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 69, No. 24, pp. 6779-6790. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c02275>
18. Bahrani, H., Baga, M., Larsen, J., Graf, R.J., Laroche, A. & Chibbar, R.N. (2021). The relationships between plant developmental traits and winter field survival in rye (*Secale cereale* L.). *Plants (Basel)*, 10, No. 11, p. 2455. <https://doi.org/10.3390/plants10112455>
19. De Diego, N. & Spíchal, L. (2020). Use of plant metabolites to mitigate stress effects in crops. In *The Chemical Biology of Plant Biostimulants*. D. Geelen, L. Xu (Eds.). (pp. 261-300), Hoboken, NJ: Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119357254.ch11>
20. Kosakivska, I.V., Vedenicheva, N.P., Babenko, L.M., Voytenko, L.V., Romanenko, K.O. & Vasyuk, V.A. (2022). Exogenous phytohormones in the regulation of growth and

- development of cereals under abiotic stresses. *Molecular Biology Reports*, 49, No. 1, pp. 617-628. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06802-2>
21. Rhaman, M.S., Imran, S., Rauf, F., Khatun, M., Baskin, C.C., Murata, Y. & Hasanuzzaman, M. (2021). Seed priming with phytohormones: an effective approach for the mitigation of abiotic stress. *Plants*, 10, p. 37. <https://doi.org/10.3390/plants10010037>
 22. Vedenicheva, N.P., Shcherbatyuk, M.M. & Kosakivska, I.V. (2021). Endogenous cytokinins of *Secale cereale* L. under high temperature impact: dynamics and localization in the alarm, acclimation and recovery phase. *Fiziolohiia roslin i henetyka*, 53, No. 4, pp. 292-306 [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/frg2021.04.292>
 23. Kieber, J.J. & Schaller, G.E. (2014). Cytokinins. *The Arabidopsis Book*, 11, p. e0168. <https://doi.org/10.1199/tab.0168>
 24. Wu, Y., Liu, H., Wang, Q. & Zhang, G. (2021). Roles of cytokinins in root growth and abiotic stress response of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Growth Regulation*, 94, p. 151-160. <https://doi.org/10.1007/s10725-021-00711-x>
 25. Schaller, G.E., Street, I.H. & Kieber, J.J. (2014). Cytokinin and the cell cycle. *Current Opinion in Plant Biology*, 21, p. 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.05.015>
 26. Kosova, K., Vitamvas, P., Urban, M.O., Klima, M., Roy, A. & Prasil, I.T. (2015). Biological networks underlying abiotic stress tolerance in temperate crops – a proteomic perspective. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, pp. 20913-20942. <https://doi.org/10.3390/ijms160920913>
 27. Li, N., Euring, D., Cha, J. Y., Lin, Z., Lu, M., Huang, L.J. & Kim, W.Y. (2021). Plant hormone-mediated regulation of heat tolerance in response to global climate Change. *Frontiers Plant Science*, 11, p. 627969. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.627969>
 28. Aslam, M., Fakher, B., Ashraf, M.A., Cheng, Y., Wang, B. & Qin, Y. (2022). Plant low-temperature stress: signaling and response. *Agronomy*, 12, p. 702. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030702>
 29. Veselova, S.V., Farhutdinov, R.G., Veselov, S.Y., Kudoyarova, G.R., Veselov, D.S. & Hartung, W. (2005). The effect of root cooling on hormone content, leaf conductance and root hydraulic conductivity of durum wheat seedlings (*Triticum durum* L.). *Journal of Plant Physiology*, 162, No. 1, pp. 21-26. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2004.06.001>
 30. Kalapos, B., Dobrev, P., Nagy, T., Vitamvas, P., Gyorgyey, J., Kocsy, G., Marincs, F. & Galiba, G. (2016). Transcript and hormone analyses reveal the involvement of ABA-signalling, hormone crosstalk and genotype-specific biological processes in cold-shock response in wheat. *Journal Plant Science*, 253, pp. 86-97. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.09.017>
 31. Dobra, J., ˇCerny, M., ˇStorchova, H., Dobrev, P., Skalak, J., Jedelsky, P.L., Luksanova, H., Gaudinova, A., Pesek, B., Malbeck, J., Vanek, T., Brzobohaty, B. & Vankova, R. (2015). The impact of heat stress targeting on the hormonal and transcriptomic response in *Arabidopsis*. *Journal Plant Science*, 231, pp. 52-61. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2014.11.005f>
 32. Frebort, I., Kowalska, M., Hluska, T., Frebortova, J. & Galuszka, P. (2011). Evolution of cytokinin biosynthesis and degradation. *Journal of Experimental Botany*, 62, pp. 2431-2452. <https://doi.org/10.1093/jxb/err004>
 33. Hincha, D.K. & Zuther, E. (2020). Introduction: plant cold acclimation and winter survival. *Methods in Molecular Biology*, 2156, pp. 1-7. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0660-5_1
 34. Rativa, A.G.S., Junior, A.T.A., Friedrich, D.D.S., Gastmann, R., Lamb, T.I., Silva, A.D.S., Adamski, J.M., Fett, J.P., Ricachenevsky, F.K. & Sperotto, R.A. (2020). Root responses of contrasting rice genotypes to low temperature stress. *Journal of Plant Physiology*, 255, p. 153307. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2020.153307>
 35. Kang, J., Peng, Y. & Xu, W. (2022). Crop root responses to drought stress: molecular mechanisms, nutrient regulations, and interactions with microorganisms in the rhizosphere. *International Journal Molecular Science*, 23, p. 9310. <https://doi.org/10.3390/ijms23169310>
 36. Nagasuga, K., Murai-Hatano, M. & Kuwagata, T. (2011). Effects of low root temperature on dry matter production and root water uptake in rice plants. *Plant Production Science*, 14, No. 1, pp. 22-29. <https://doi.org/10.1626/pp.14.22>
 37. Durand, M., Porcheron, B., Hennion, N., Maurousset, L., Lemoine, R. & Pourtau, N. (2016). Water deficit enhances C export to the roots in *Arabidopsis thaliana* plants with

- contribution of sucrose transporters in both shoot and roots. *Plant Physiology*, 170, No. 3, pp. 1460-1479. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01926>
38. Tiwari, M., Kumar, R., Subramanian, S., Doherty, C.J. & Jagadish, S.V.K. (2023). Auxin–cytokinin interplay shapes root functionality under low-temperature stress. *Trends Plant Science*, 22, No. 00311-9, pp. 1360-1385. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2022.12.004>
 39. Heidari, P., Reza Amerian, M. & Barcaccia, G. (2021). Hormone profiles and antioxidant activity of cultivated and wild tomato seedlings under low-temperature stress. *Agronomy*, 11, No. 6, p. 1146. <https://doi.org/10.3390/agronomy11061146>
 40. Prerostova, S., Černý, M., Dobrev, P.I., Motyka, V., Hluskova, L., Zupkova, B., Gaudinova, A., Knirsch, V., Janda, T., Brzobohatý, B. & Vankova, R. (2021). Light regulates the cytokinin-dependent cold stress responses in *Arabidopsis*. *Frontiers in Plant Science*, 11, p. 608711. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpls.2020.608711>
 41. Ahres, M., Pálmai, T., Gierczik, K., Dobrev, P., Vanková, R. & Galiba, G. (2021). The impact of far-red light supplementation on hormonal responses to cold acclimation in barley. *Biomolecules*, 11, No. 3, p. 450. <https://doi.org/10.3390/biom11030450>
 42. Fenollosa, E., Gámez, A. & Munné-Bosch, S. (2018). Plasticity in the hormonal response to cold stress in the invasive plant *Carpobrotus edulis*. *Journal of Plant Physiology*, 231, pp. 202-209. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.09.009>
 43. Khan, T.A., Fariduddin, Q. & Yusuf, M. (2017). Low-temperature stress: is phytohormones application a remedy? *Environmental Science and Pollution Research International*, 24, No. 27, pp. 21574-21590. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9948-7>
 44. Romanov, G.A. & Schmülling, T. (2021). On the biological activity of cytokinin free bases and their ribosides. *Planta*, 255, No. 1, p. 27. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03810-1>
 45. Nguyen, H.N., Nguyen, T.Q., Kisiala, A.B. & Emery, R.J.N. (2021). Beyond transport: cytokinin ribosides are translocated and active in regulating the development and environmental responses of plants. *Planta*, 254, p. 45. <https://doi.org/10.1007/s00425-021-03693-2>
 46. Tian, J., Ma, Y., Chen, Y., Chen, X. & Wei, A. (2022). Plant hormone response to low-temperature stress in cold-tolerant and cold-sensitive varieties of *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. *Frontiers of Plant Science*, 13, p. 847202. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.847202>
 47. Janda, T., Majlath, I. & Szalai, G. (2014). Interaction of temperature and light in the development of freezing tolerance in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33, pp. 460-469. <https://doi.org/10.1007/S00344-013-9381-1>
 48. Ahres, M., Pálmai, T., Kovács, T., Kovács, L., Lacey, J., Vankova, R., Galiba, G. & Borbély, P. (2023). The effect of white light spectrum modifications by excess of blue light on the frost tolerance, lipid- and hormone composition of Barley in the early pre-hardening phase. *Plants*, 12, No. 1, p. 40. <https://doi.org/10.3390/plants12010040>
 49. Bakhtavar, M.A., Afzal, I., Basra, S.M.A., Ahmad, A.H. & Noor, M.A. (2015). Physiological strategies to improve the performance of spring maize (*Zea mays* L.) planted under early and optimum sowing conditions. *PLoS One*, 10, No. 4, p. e0124441. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124441>
 50. Xia, J.C., Zhao, H., Liu, W.Z., Li, L.G. & He, Y.K. (2009). Role of cytokinin and salicylic acid in plant growth at low temperatures. *Plant Growth Regulation*, 57, No. 3, pp. 211-221. <https://doi.org/10.1007/s10725-008-9338-8>
 51. Belintani, N.G., Guerzoni, J.T., Moreira, R.M. & Vieira, L.G. (2011). Improving low-temperature tolerance in sugarcane by expressing the ipt gene under a cold inducible promoter. *Biologia Plantarum*, 56, pp. 71-77. <https://doi.org/10.1007/s10535-012-0018-1>
 52. Panda, B.B., Sekha, S., Dash, S.K., Behera, L. & Shaw, B.P. (2018). Biochemical and molecular characterisation of exogenous cytokinin application on grain filling in rice. *BMC Plant Biology*, 18, p. 89. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1279-4>
 53. Yang, D., Li, Y., Shi, Y., Cui, Z., Luo, Y., Zheng, M., Chen, J., Li, Ya., Yin, Y. & Wang, Z. (2016). Exogenous cytokinins increase grain yield of winter cultivars by improving stay-green characteristics under heat stress. *PLoS One*, 11, p. e0155437. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155437>

Received 13.03.2023

CYTOKININ LOCALIZATION AND DYNAMICS IN RYE PLANTS UNDER CHILLING AND KERNEL PRIMING WITH ZEATIN

N.P. Vedenicheva, M.M. Shcherbatyuk, I.V. Kosakivska

M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv, 01601, Ukraine
e-mail: vedenicheva@ukr.net

In the early stages of plant development, a sharp chilling can pose a significant threat to cold-resistant crops, such as winter cereals, in particular, rye. Phytohormones from the cytokinin family play a crucial role in regulating plant response to low-temperature stress. Pre-sowing seed priming with cytokinin solutions is a promising approach to improving the stress tolerance of cereals. The aim of this study was to investigate the impact of chilling on the dynamics and localization of cytokinins in plants of rye cv. Boguslavka in the early stages of development, to determine the possibility of mitigating the adverse effects of cold stress through kernel priming with a zeatin solution, and to assess the effect of this substance on the balance of endogenous cytokinins. Kernels were soaked in either water or a zeatin solution (10^{-6} M), and plants were grown under controlled conditions in the vegetation chamber. Chilling was induced by exposing 7-day-old plants at 2 °C for 2 h or twice for 6 h over two days. Endogenous cytokinins were analyzed using the HPLC-MS method. We found significant changes in the cytokinin pool in plants exposed to 2 °C for 2 h while no morphological alterations were observed. The content of *trans*-zeatin and *trans*-zeatin riboside increased considerably in the shoots of the plants grown from the kernels soaked in water, whereas in the roots, the level of these cytokinins dropped sharply. Prolonged chilling led to retarded shoot growth and elongated roots. Simultaneously, the level of *trans*-zeatin, isopentenyladenosine and isopentenyladenine in the shoots decreased to minimum values, while the amount of *trans*-zeatin riboside increased almost twofold. Transformations of the cytokinin pool in the roots followed a similar pattern. Overall, under the cold stress at the alarm stage, cytokinin balance changes were aimed at maintaining growth processes, while during the acclimation stage, they contributed to growth inhibition. Pre-sowing priming of rye kernels with a zeatin solution allowed plants to maintain normal growth and morphology under of prolonged chilling. This treatment significantly affected the homeostasis of endogenous cytokinins, resulting in a more moderate rearrangement of the cytokinin pool in stressed plants than in the control. We assume that changes in the balance of cytokinins due to seed priming allow plants to improve cold tolerance. Seed treatment with cytokinins could be a promising approach to increasing the adaptive properties of plants.

Key words: *Secale cereale* L., cytokinins, adaptation, growth, cold stress, kernel priming.