



<https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.03.242>

RESEARCH ARTICLE

Ендогенні цитокініни у рослин *Secale cereale* (Poaceae) за дії ґрунтової посухи

Ніна П. ВЕДЕНИЧОВА * , Микола М. ЩЕРБАТЮК , Ірина В. КОСАКІВСЬКА 

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного Національної академії наук України,
вул. Терещенківська 2, Київ 01601, Україна

* Автор для листування: vedenicheva@ukr.net

Реферат. Внаслідок глобальних змін клімату та антропогенного навантаження ґрунтової посухи стали однією з головних загроз, які гальмують ріст і розвиток рослин, призводять до втрат врожаїв. Формування механізму стресостійкості відбувається за участі фітогормонів, серед яких у культурних злаків найменш дослідженими є цитокініни. В роботі було вивчено вплив ґрунтової посухи на ріст рослин та гомеостаз ендогенних цитокінінів в надземній частині та коренях *Secale cereale* (жита посівного) на початкових етапах вегетації. Встановлено зв'язок між характером ростових процесів і балансом цих фітогормонів. Рослини вирощували в піщаній культурі у фітокамері. Посуху створювали шляхом припинення поливу 9-добових рослин впродовж наступних восьми діб. За досягнення критичного рівня в'янення у стресованих і контрольних 17-добових рослин фіксували надземну частину та корені. Вміст ендогенних цитокінінів аналізували методом ВЕРХ-МС. Встановлено, що гальмування росту надземної частини і видовження коренів у стресованих рослин відбувалось на тлі зниження вмісту *транс*-зеатинрибозиду, що дозволяє розглядати цей цитокінін як регулятор ростової активності у жита посівного за умов ґрунтової посухи. Зафіксоване нами зростання рівня *транс*-зеатину та ізопентеніладеніну в надземній частині і коренях стресованих рослин жита вказує на участь цих гормонів у формуванні "захисного антистресового блоку". Отримані результати свідчать про поліфункціональну активність цитокінінів та їхню участь у регуляції різних складових відповіді на водний дефіцит, що доповнює знання про роль цитокінінів у формування стресостійкості злаків.

Ключові слова: адаптація, ґрунтова посуха, ріст, стрес, цитокініни, *Secale cereale*

Вступ

Посуха є одним з найбільш небезпечних факторів зовнішнього середовища, який лімітує продуктивність агрокультур. Нестача води негативно впливає на фотосинтез, поглинання

поживних речовин, клітинний метаболізм та інші життєві функції рослин. У свою чергу, рослини реагують на посуху та адаптуються, щоб пом'якшити її негативні наслідки і зберегти життєздатність (Osakabe et al., 2014). У регуляції пристосування рослин до водного дефіциту

ARTICLE HISTORY. Submitted 21 October 2023. Revised 30 May 2024. Published 29 June 2024

CITATION. Vedenicheva N.P., Shcherbatiuk M.M., Kosakivska I.V. 2024. Endogenous cytokinins in plants of *Secale cereale* (Poaceae) under the effects of soil drought. *Ukrainian Botanical Journal*, 81(3): 242–250. [In Ukrainian]. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj81.03.242>

© M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine, 2024

© Publisher PH "Akademperiodyka" of the NAS of Ukraine, 2024

This is an open access article under the CC BY license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

задіяні фітогормони, зокрема цитокініни (Sharma et al., 2022), які контролюють активність більшості АБК-залежних генів, пов'язаних із посухостійкістю (Sharma et al., 2023). Нестача вологи спричинює зниження вмісту цитокінінів внаслідок репресування генів їхнього біосинтезу і сигналіngu та активації генів цитокінінооксидази (Cortleven et al., 2019; Du et al., 2023), в результаті чого зростає чутливість рослин до АБК і гальмується ріст пагонів (Tran et al., 2007). Генетичні маніпуляції з цими генами, а також обробка рослин екзогенними цитокінінами призводять до підвищення стресостійкості загалом, і до зростання посухостійкості зокрема (Chhaya et al., 2021). Механізм такого зростання пов'язаний з флуктуаціями рівнів ендогенних цитокінінів, він має багатовекторну природу та здійснюється через тісний взаємозв'язок з іншими фітогормонами (Hai et al., 2020). Так, штучне зниження вмісту цитокінінів у рослин ячменю позитивно впливало на кількість і довжину латеральних коренів, а також загальну біомасу коренів, що сприяло покращенню мінерального живлення пагону та збільшувало його стійкість до нестачі води (Ramireddy et al., 2018). Вміст хлорофілу та швидкість фотосинтезу за умов водного дефіциту зростали у трансгенних рослин бавовни (Kurru et al., 2013) і мітлиці повзучої (Xu et al., 2017) з підвищеною концентрацією цитокінінів. Низький рівень цитокінінів у мутантів томатів позитивно позначався на водному статусі рослин за рахунок зниження щільності та провідності продинів, і, відповідно, транспірації (Farber et al., 2016). Цитокініни також здатні затримувати індуковане посухою старіння листків через активацію системи антиоксидантного захисту (Hönig et al., 2018). Загалом, генетичні модифікації, пов'язані з метаболізмом і сигналіngом цитокінінів, активно використовуються в селекції агрокультур з метою оптимізації посухостійкості та врожайності. Однак, застосування екзогенних гормонів або мутантів з їхнім дефіцитом чи гіперсинтезом може призвести до отримання хибних результатів, адже зміни вмісту одного гормону спричинюють перетворення у метаболізмі інших. Це, в свою чергу, діє на рівень і функціонування вихідного фітогормону, а також запускає серію подій, не характерних *in planta*. Тому дослідження нетрансформованих рослин не втрачають актуальності, оскільки тільки вони дозволяють скласти уявлення щодо

ролі цитокінінів у формуванні адаптації та стійкості рослин до посухи.

Однією з важливих сільськогосподарських культур є жито, зернівка якого багата на цінні поживні речовини, зокрема білки, жири, амінокислоти, клітковину, вітаміни та мінеральні компоненти (Wrigley, Bushuk, 2017). Рослини жита невибагливі до умов вирощування, вони відрізняються високою стресостійкістю порівняно з іншими злаками. Тому цю культуру часто вирощують на піщаних ґрунтах у регіонах з помірно посушливим кліматом. Однак ґрунтова посуха спричинює значні втрати врожаю жита і може спровокувати загибель молодих рослин (Hübner et al., 2013). За умов водного дефіциту у рослин жита значно знижувався вміст розчинних цукрів і компонентів антиоксидантної системи (Czuczulo-Mysza, Myśków, 2017), зменшувався індекс листової поверхні й скорочувався період вегетації (Kottmann et al., 2016). Гормональна регуляція пристосування цих рослин до умов водного дефіциту досліджена вкрай недостатньо. Показано, що у рослин тритикале посуха індукує специфічні зміни гормонального балансу, за які відповідають компоненти геному, привнесені від жита (Hura et al., 2017). Раніше нами було показано, що за дії температурних стресів відбувається швидка перебудова цитокінінового статусу рослин жита, яка створює підґрунтя для адаптації та виживання (Vedenicheva et al., 2022a, 2022b).

Метою нашої роботи було виявлення закономірностей динаміки цитокінінів у надземній частині та коренях молодих рослин озимого жита за умов ґрунтової посухи.

Матеріали та методи

Рослинний матеріал, дизайн досліду. Досліди проводили з рослинами озимого жита — *Secale cereale* L. 'Богуславка'. Сорт середньостиглий, зимо- та холодостійкий. Відкалібровані зернівки стерилізували у 80%-му розчині етанолу, відмивали дистильованою водою та пророщували на вологому фільтрувальному папері у чашках Петрі за умов вегетаційної лабораторії при температурі +16 °C, штучному освітленні 190 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (фотоперіод 16/8 год, день/ніч) та вологості повітря 60%. Після прокльовування зернівки висаджували у пластикові ємності, заповнені 1,5 л прожареного річкового піску, і вирощували за таких самих умов. Полив здійснювали щоденно



Рис. 1. 17-добові рослини *Secale cereale* в умовах піщаної культури: ліворуч — контроль, праворуч — після 8 дів ґрунтової посухи

Fig. 1. 17-day-old plants of *Secale cereale* growing in sand culture: left — control, right — after 8 days of soil drought

50 мл розчину Кнопа на одну ємність. Через 9 дів дослідні рослини жита припиняли поливати, а контрольні — продовжували. Ознаки в'янення у дослідних рослин з'являлися на 7-му добу, на 8-му добу вологість піщаного субстрату становила не більше 5%, в'янення сягало критичного рівня (рис. 1), після чого рослини починали гинути. Фіксацію надземної частини і коренів здійснювали на 17-ту добу експерименту заморожуванням у морозильній камері при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Виділення й аналітичне визначення цитокінінів. Цитокініни з гомогенізованого матеріалу екстрагували 80%-вим розчином метанолу. Очищення екстрактів здійснювали поетапним центрифугуванням, фракціонуванням з бутанолом, іонообмінною та тонкошаровою хроматографією. Деталі цих процедур описано раніше (Vedenicheva et al., 2022a). Ідентифікацію та кількісний аналіз ендогенних цитокінінів проводили методом ВЕРХ-МС на приладі Agilent 1200 (Santa Clara, CA, USA) з колонкою Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18. Елюцію проводили за допомогою ступінчастої градієнтної системи розчинників метанол : деіонізована вода : оцтова кислота за схемою: 0 хв — $\text{CH}_3\text{OH}/0,5\%$ -вий розчин CH_3COOH (37/63) \rightarrow 25 хв:

$\text{CH}_3\text{OH}/0,5\%$ -вий розчин CH_3COOH (70/30) \rightarrow 35 хв: $\text{CH}_3\text{OH}/0,5\%$ -вий розчин CH_3COOH (100/0). Елюент пропускали через УФ-діодно-матричний детектор і мас-спектрометр (Agilent 6120 Quadrupole LC/MS) в комбінованому режимі (електроспрей і хімічна іонізація за атмосферного тиску). Результати аналізували та обробляли, використовуючи програмне забезпечення Agilent ChemStation, версія B.03.01 online. У якості маркерів були стандартні розчини *транс*-зеатину, *транс*-зеатинрибозиду, ізопентеніладенозину, ізопентеніладеніну і *транс*-зеатин-О-глюкозиду (Sigma-Aldrich, USA).

Статистична обробка результатів. Досліди проводили в трьох біологічних і п'яти аналітичних повторях. Результати опрацьовували статистично з використанням програми Statistix 10.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, USA). Прийнятий рівень значущості був встановлений як $P \leq 0,05$.

Результати та обговорення

Припинення поливу спричинювало поступове висушування субстрату для вирощування рослин. Розміри надземної частини контрольних рослин, які вирощували в умовах постійного поливу, за 8 дів експерименту збільшилися на 58%, а коренів — на 42%. Водночас надземна частина рослин, які піддавали впливу водного дефіциту, виросла лише на 39%, а видовження коренів перевищувало 78% (рис. 2). Співвідношення довжини корінь/пагін у контрольних 17-добових рослин становило 0,25, тоді як у дослідних — 0,36.

Отже, ґрунтова посуха негативно вплинула на ріст пагону рослин жита й одночасно стимулювала ріст кореневої системи. Зростання співвідношення розмірів коренів до пагонів є типовою неспецифічною реакцією рослин на посуху, яка відбувається внаслідок каскаду фізіологічних і біохімічних змін (гальмування розтягнення клітин, закривання продохів і припинення транспірації, інгібування фотосинтезу, порушення цілісності мембран, утворення активних форм кисню, накопичення проліну тощо) (Seleiman et al., 2021). Корені першими розпізнають нестачу води, яка спричинює їхнє видовження та загальну експансію, а також диспропорцію розмірів усієї рослини (Karoor et al., 2020). Реакцію кореневої системи на нестачу води, її роль,

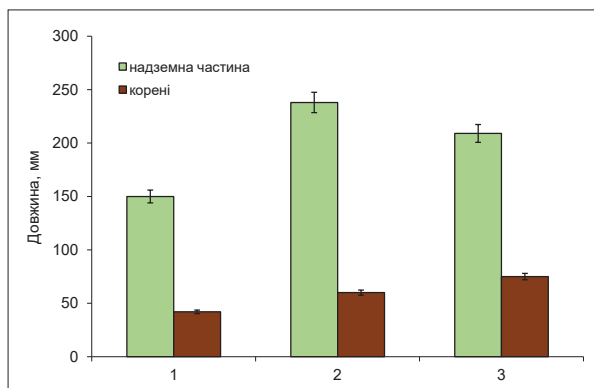
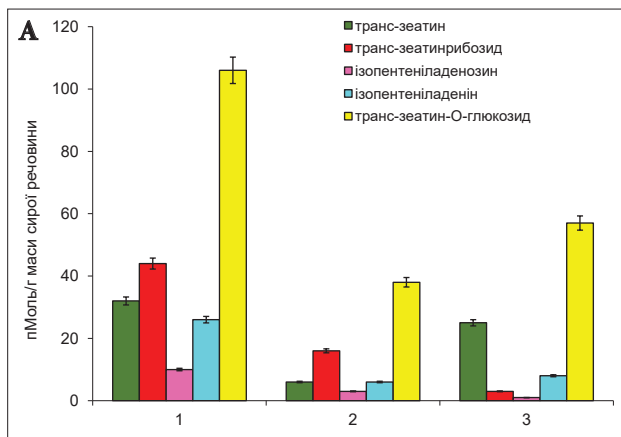


Рис. 2. Зміни лінійних параметрів рослин *Secale cereale* за умов експерименту: 1 — контрольні 9-добові рослини; 2 — контрольні 17-добові рослини; 3 — дослідні 17-добові рослини (на 8-му добу після припинення поливу)

Fig. 2. Changes in the linear parameters of *Secale cereale* plants under experimental conditions: 1 — control 9-day-old plants; 2 — control 17-day-old plants; 3 — experimental 17-day-old plants (on the 8th day after watering cessation)

особливості у подоланні посухи, значення для виживання та продуктивності рослин детально описано для рослин рису (Gowda et al., 2011), в яких здатність коренів до видовження і нарощування біомаси корелювала зі ступенем посухостійкості (Chu et al., 2014). Судячи з отриманих нами морфометричних характеристик, рослини жита сорту 'Богуславка' володіють значним потенціалом стійкості до дефіциту вологи.



Молоді рослини жита на 9-ту добу після проростання містили достатньо високі рівні цитокінінів. У коренях вміст усіх досліджених форм цитокінінів був помітно вищим, ніж у надземній частині, зокрема, концентрація *транс*-зеатинрибозиду була більше учетверо (рис. 3). Такий розподіл цитокінінів є типовим для вищих насінневих рослин, у яких корені слугують одним із сайтів біосинтезу цих гормонів, звідки вони транспортуються по ксилемі переважно у формі зеатинрибозиду в пагін і, перетворюючись у зеатин, регулюють його ріст залежно від азотного живлення (Sakakibara, 2021). Значні кількості ізопентеніладеніну в 9-добових рослинах жита вказують на інтенсивний біосинтез цитокінінів *de novo*, оскільки цей цитокінін є первинним продуктом цього процесу, а надлишок гормонів, вірогідно, "депонується" у вигляді *транс*-зеатин-О-глюкозиду, неактивної форми, вміст якої в цей період був надзвичайно високим (рис. 3). Як відомо, О-глюкозиди слугують мобільним резервом цитокінінів через їхню здатність легко розщеплюватися з утворенням активних форм гормону (Frébort et al., 2011).

На 17-добу розвитку контрольних рослин жита рівень усіх форм цитокінінів суттєво знижувався. Так, кількість *транс*-зеатину в пагонах зменшилася у п'ятеро, а в коренях — удвічі. Вміст *транс*-зеатинрибозиду в пагонах знизився втричі, а в коренях — у 2,5 рази (рис. 3). Спостерігалось також падіння рівнів ізопентенільних

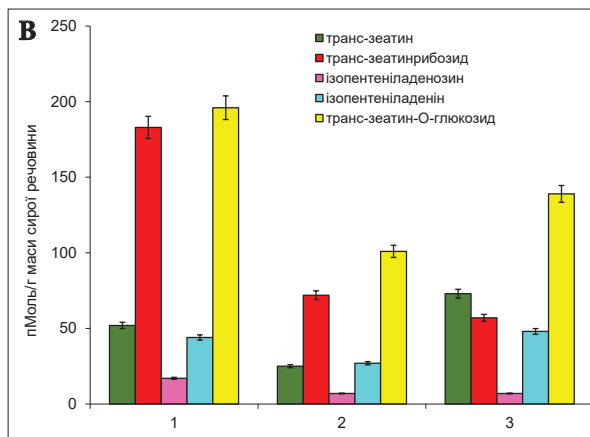


Рис. 3. Вміст цитокінінів у рослин *Secale cereale* за умов експерименту. А: у надземній частині; В: у коренях. 1 — контрольні 9-добові рослини; 2 — контрольні 17-добові рослини; 3 — дослідні 17-добові рослини (на 8-му добу після припинення поливу)

Fig. 3. Cytokinin content in *Secale cereale* under experimental conditions. A: shoots; B: roots. 1 — control 9-day-old plants; 2 — control 17-day-old plants; 3 — experimental 17-day-old plants (on the 8th day after watering cessation)

форм і *транс*-зеатин-О-глюкозиду як в надземній частині, так і в коренях, що свідчить про скорочення біосинтезу цитокінінів у рослині в цілому. Цитокініни виконують першорядну роль у регуляції ростових процесів рослин на ранніх стадіях розвитку, в період максимальної активності ростових меристем. Акумуляція цих гормонів індукуює експресію генів *WUS*, одного з ключових транскрипційних факторів, що детермінує функціонування апікальних меристем (Lee et al., 2019). У міру "дорослішання" рослин змінюється співвідношення фітогормонів. Метаболізм цитокінінів спрямовується на зниження їхньої активності та сигналіngu шляхом пригнічення генів, що кодують ферменти біосинтезу (ізопентенілтрансферази, *IPT*), та активації генів ферментів руйнування (цитокініноксидази/дегідрогенази, *CKX*) та інактивації (глюкозилтрансферази) (Chen et al., 2021).

Важливу роль в регуляції накопичення цитокінінів відіграють зовнішні фактори (Prasad, 2022). Нами встановлено, що у надземній частині рослин жита посуха індукувала чотирикратне зростання вмісту *транс*-зеатину, а також менш помітне збільшення рівнів ізопентеніладеніну й *транс*-зеатин-О-глюкозиду (біля 30%). Водночас, рівні рибозильованих форм цитокінінів — *транс*-зеатинрибозиду й ізопентеніладенозину — суттєво зменшувалися (рис. 3А). У коренях була зафіксована подібна динаміка цитокінінів, хоча кількісні флуктуації були виражені меншою мірою. Так, концентрація *транс*-зеатину зростала втричі, а рівень *транс*-зеатинрибозиду падав лише на 20% (рис. 3В).

Участь цитокінінів у регуляції відповіді рослин на нестачу вологи була встановлена раніше в багатьох дослідженнях. Відмічено загальну тенденцію до зниження рівня цих гормонів у стресованих рослин (Cortleven et al., 2019). Так, вміст *транс*- і *цис*-зеатинрибозиду, їхніх нуклеотидів, а також глюкозидів зеатину знижувався в базальній частині рослин рису за умов помірної та сильної посухи (Todaka et al., 2017). При вирощуванні рослин арабідопсису на торф'янистому субстраті 13-добова посуха спричинювала гальмування росту і зниження вмісту активних форм цитокінінів (головним чином *транс*-зеатину) та їхніх рибозидів, водночас рівень *цис*-зеатину і *N*-глюкозидів зростав (Prerostova et al., 2018). У листках сої на початку репродуктивного розвитку штучна посуха (6 діб припинення

поливу, вологість субстрату 5%) викликала зменшення вмісту *транс*-зеатину і дигідрозеатину, хоча сумарний вміст зеатин-подібних гормонів залишався незмінним. При цьому гальмувалася активність генів *GmIPT* та подавлялася активність генів *GmCKX* (Le et al., 2012).

Наші експерименти також показали, що посуха диференційовано впливає на вміст окремих форм цитокінінів. Зниження концентрації було встановлено для *транс*-зеатинрибозиду й ізопентеніладеніну в пагонах і для *транс*-зеатинрибозиду в коренях. Інші досліджені гормони демонстрували зростання вмісту. В попередніх наших дослідженнях з рослинами жита сорту 'Богуславка' динаміка *транс*-зеатинрибозиду за умов холодного стресу так само суттєво відрізнялась від флуктуацій інших форм гормону (Vedenicheva et al., 2023). Це дозволило нам припустити, що метаболізм саме цього цитокініну має відношення до регуляції стресостійкості жита. Подібні припущення висловлювалися і в роботах, виконаних на інших рослинах. Зокрема, у посухостійкого сорту рису при вирощуванні в умовах польового досліду на супіщаних ґрунтах за дії водного дефіциту в період наповнення зерна визначали кращу розвиненість кореневої системи та вищу активність ферментів, що перетворюють цукри на крохмаль, а також вищий рівень зеатину+зеатинрибозиду в листках і коренях, ніж у рослин нестійкого сорту (Chu et al., 2014). За умов водного дефіциту впродовж 5 діб, стимульованого додаванням поліетиленгліколю в аеропоніку, спостерігали зниження вмісту зеатину+зеатинрибозиду в коренях проростків озимої пшениці, хоча у посухостійкого сорту воно було не таким помітним, як у нестійкого (Han et al., 2015). Слід зауважити, що в двох вищезгаданих дослідженнях для визначення вмісту ендогенних цитокінінів автори використовували метод імуноферментного аналізу, який не дає можливості розділити зеатин і зеатинрибозид, а тому трактування ролі *транс*-зеатинрибозиду в цих дослідах є неоднозначним. Функціональне значення цього цитокініну на сьогодні дебатується. Він може слугувати транспортною формою для передачі довгодистанційних сигналів і не бути активним гормоном, оскільки ступінь його зв'язування з рецепторами невисокий. Проте значна кількість повідомлень і наші результати, вказують на його важливість для регуляції різноманітних фізіологічних процесів, в тому числі відповіді на стреси,

можливо, через швидку трансформацію в активну форму (зеатин) (Jameson, 2023).

Слід зазначити, що раніше, вивчаючи вплив критичних температур на динаміку цитокінінів рослин жита сорту 'Богуславка', ми з'ясували, що вміст гормонів змінюється протилежним чином в надземній частині та коренях як на початку стресу (стадія тривоги), так і при пролонгованому впливі негативних чинників (стадія аклімації) (Vedenicheva et al., 2022a, 2022b). Закономірності розподілу цитокінінів за впливу дефіциту вологи суттєво відрізняються від тих, що виявлені при температурних стресах. Так, динаміка цитокінінів у пагонах і коренях була подібною, різниця стосувалася лише кількісних показників. Безумовно, головною причиною цього є різні умови експериментів. На відміну від температурних впливів, які мають швидкий характер, і дозволяють фіксувати реакцію рослин погодинно, дефіцит вологи розвивався поступово. Вирощування рослин жита у піщаній культурі дозволяло довести вологість ґрунту до мінімальних значень за відносно короткий період (8 діб), проте визначити стадії формування реакції на стрес при цьому складно. За температурних стресів вміст цитокінінів змінювався таким чином, щоб на стадії тривоги підтримувати ростову активність, а на стадії аклімації — гальмувати її. Отримані нами дані свідчать, що за умов поступового зростання водного дефіциту функції цитокінінів не обмежуються лише регулюванням ростової активності рослин. Відомо, що цитокініни є негативним регулятором росту й розвитку кореневої системи (Jing, Strader, 2019). Видовження коренів за умов посухи, яке ми спостерігали у рослин жита, відбувалося на фоні збільшення вмісту активних форм цитокінінів — *транс*-зеатину й ізопентеніладеніну (рис. 3В). Подібні результати отримано раніше в досліді з рослинами *Agrostis stolonifera* L., у яких видовження коренів під час тривалої посухи (21 доба) при вирощуванні на глинистому субстраті супроводжувалося зростанням вмісту окремих форм цитокінінів (*транс*-зеатинрибозиду й ізопентеніладеніну) (Xu et al., 2016). Крім того, рослини ячменю з оверекспресією гену *CKX* і відповідно зниженим рівнем цитокінінів мали видовжену кореневу систему, були менш чутливими до посухи й не припиняли ріст пагону за умов стресу (Ramireddy et al., 2018). Стрес-індукований синтез цитокінінів у трансгенних

рослин рису підвищував посухостійкість завдяки цитокінін-залежній координації метаболізму азоту і вуглецю (Reguera et al., 2013).

Отже, можна припустити, що зростання рівнів цитокінінів у коренях жита при нестачі вологи є захисною реакцією на даний вид стресу. Процеси, які контролюються цитокінінами при цьому, ще належить з'ясувати у майбутньому. Не виключено, що зниження вмісту *транс*-зеатинрибозиду в коренях сприяє активації їхнього росту, але це припущення потребує додаткових доказів.

Гальмування росту надземної частини рослин жита при водному дефіциті спостерігалось при підвищеному рівні *транс*-зеатину й ізопентеніладеніну (рис. 3А). Схожу закономірність було виявлено у рослин перцю, де зростання вмісту цитокінінів (*транс*-зеатину, *транс*-зеатинрибозиду й ізопентеніладеніну) відбувалося в листках впродовж 48 год сильного осмотичного стресу (Padilla et al., 2023). Дослідження зародків ріпаку двох генотипів з різною посухостійкістю та різними стратегіями подолання негативних наслідків посухи показало, що більш стійкий генотип, який демонстрував значне накопичення біомаси та білків енергетичного метаболізму і редокс-гомеостазу, акумулював активні форми цитокінінів за умов нестачі вологи (Urban et al., 2021). Підвищений вміст цитокінінів у таких рослин як мітлиця повзуча, тютюн, арахіс, бавовна з оверекспресією гену *IPT* збільшували посухостійкість завдяки зростанню активності антиоксидантних ферментів, покращенню фотосинтезу і накопиченню метаболітів (див. огляд Liu et al., 2020). Фоліарна обробка рослин кукурудзи (Islam et al., 2022) або праймування насіння цитокінінами (Alharby et al., 2020), які підвищують рівень ендогенних цитокінінів, значно поліпшували ріст, водний статус і врожайність за умов дегідратації. Такий позитивний вплив цитокінінів вочевидь пов'язаний не з регуляцією ростових процесів у рослин, а з активацією захисних механізмів. Відомо, що цитокініни здатні затримувати старіння листків, спричинене посухою (Hönig et al., 2018). Хоча цитокініни виступають в ролі антагоніста АБК в процесі закриття продихів за умов водного дефіциту, збільшуючи транспірацію, вони водночас підтримують функціонування реактивних центрів фотосистеми II, вміст хлорофілу та цілісність мембран хлоропластів (Hudeček et al., 2023; Müller, Munné-Bosch, 2021).

Отже, отримані нами результати до певної міри відображають поліфункціональність цитокінінів, оскільки дозволяють припустити, що окремі форми гормону задіяні в регуляції різних складових відповіді на водний дефіцит. Зокрема, *транс*-зеатинрибозид, вірогідно, бере участь у гальмуванні росту пагону та стимуляції росту коренів, а інші форми гормону формують захисний антистресовий "блок".

Висновки

Грунтова посуха змінювала пропорції розмірів коренів і пагонів рослин озимого жита сорту 'Богуславка'. Зниження вмісту *транс*-зеатинрибозиду, яке супроводжувало гальмування росту надземної частини і стимулювало видовження коренів, відповідає існуючим уявленням щодо позитивної регуляції цитокінінами пагонів і негативної — кореневої системи. Динаміка інших форм цитокінінів вказує на їхню участь у формуванні пристосувальної реакції рослин до зневоднення.

Отримані результати можуть бути корисними при створенні посухостійких сортів жита та при розробці заходів щодо використання регуляторів росту з метою підвищення стресостійкості злаків.

Подяки

Автори висловлюють щирі подяки директору Інституту фізіології рослин та генетики НАН України академіку НАН України В.В. Моргуну та співробітникам Інституту за надання насінневого матеріалу.

ДОТРИМАННЯ ЕТИЧНИХ НОРМ

Автори повідомляють про відсутність будь-якого конфлікту інтересів.

ORCID

Н.П. Веденичова:  <https://orcid.org/0000-0002-0579-0342>

М.М. Щербатюк:  <https://orcid.org/0000-0002-6453-228X>

І.В. Косаківська:  <https://orcid.org/0000-0002-2173-8341>

СПИСОК ПОСИЛАНЬ

- Alharby H., Alzahrani Y.M., Rady M. 2020. Seeds pretreatment with zeatins or maize grain-derived organic biostimulant improved hormonal contents, polyamine gene expression, and salinity and drought tolerance of wheat. *International Journal of Agriculture and Biology*, 24: 714–724. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.1491>
- Chen L., Zhao J., Song J., Jameson P.E. 2021. Cytokinin glucosyl transferases, key regulators of cytokinin homeostasis, have potential value for wheat improvement. *Plant Biotechnology Journal*, 19(5): 878–896. <https://doi.org/10.1111/pbi.13595>
- Chhaya Yadav B., Jogawat A., Gnanasekaran P., Kumari P., Lakra N., Lal S.K., Pawar J., Narayan O.P. 2021. An overview of recent advancement in phytohormones-mediated stress management and drought tolerance in crop plants. *Plant Gene*, 25: 100264. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2020.100264>
- Chu G., Chen T., Wang Z., Yang J., Zhang J. 2014. Morphological and physiological traits of roots and their relationships with water productivity in water-saving and drought-resistant rice. *Field Crops Research*, 162: 108–119. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2013.11.006>
- Cortleven A., Leuendorf J.E., Frank M., Pezzetta D., Bolt S., Schmülling T. 2019. Cytokinin action in response to abiotic and biotic stress in plants. *Plant, Cell and Environment*, 42: 998–1018. <https://doi.org/10.1111/pce.13494>
- Czyczyło-Mysza I., Myśków B. 2017. Analysis of the impact of drought on selected morphological, biochemical and physiological traits of rye inbred lines. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39: 87. <https://doi.org/10.1007/s11738-017-2385-x>
- Du Y., Zhang Z., Gu Y., Li W., Wang W., Yuan X., Zhang Y., Yuan M., Du J., Zhao Q. 2023. Genome-wide identification of the soybean cytokinin oxidase/dehydrogenase gene family and its diverse roles in response to multiple abiotic stress. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1163219. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1163219>
- Farber M., Attia Z., Weiss D. 2016. Cytokinin activity increases stomatal density and transpiration rate in tomato. *Journal of Experimental Botany*, 67(22): 6351–6362. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw398>
- Frébort I., Kowalska M., Hluska T., Frébortová J., Galuszka P. 2011. Evolution of cytokinin biosynthesis and degradation. *Journal of Experimental Botany*, 62: 2431–2452. <https://doi.org/10.1093/jxb/err004>
- Gowda V.R.P., Henry A., Yamauchi A., Shashidhar H.E., Serraj R. 2011. Root biology and genetic improvement for drought avoidance in rice. *Field Crops Research*, 122(1): 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2011.03.001>
- Hai N.N., Chuong N.N., Tu N.H.C., Kisiala A., Hoang X.L.T., Thao N.P. 2020. Role and Regulation of Cytokinins in Plant Response to Drought Stress. *Plants (Basel)*, 9(4): 422. <https://doi.org/10.3390/plants9040422>
- Han H., Tian Z., Fan Y., Cui Y., Cai J., Jiang D., Cao W., Dai T. 2015. Water-deficit treatment followed by re-watering stimulates seminal root growth associated with hormone balance and photosynthesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation*, 77: 201–210. <https://doi.org/10.1007/s10725-015-0053-y>

- Hönig M., Plihalová L., Husičková A., Nisler J., Doležal K. 2018. Role of cytokinins in senescence, antioxidant defence and photosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 19: 4045. <https://doi.org/10.3390/ijms19124045>
- Hübner M., Wilde P., Schmiedchen B., Dopierala P., Gowda M., Reif J.C., Miedaner T. 2013. Hybrid rye performance under natural drought stress in Europe. *Theoretical and Applied Genetics*, 126(2): 475–82. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1994-4>
- Hudeček M., Nožková V., Plihalová L., Plihal O. 2023. Plant hormone cytokinin at the crossroads of stress priming and control of photosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1103088. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1103088>
- Hura T., Dziurka M., Hura K., Ostrowska A., Dziurka K., Gadinowska J. 2017. Wheat and rye genome confer specific phytohormone profile features and interplay under water stress in two phenotypes of triticale. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118: 494–509. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.016>
- Islam M.R., Islam M.S., Akter N., Mohi-Ud-Din M., Mostofa M. G. 2022. Foliar application of cytokinin modulates gas exchange features, water relation and biochemical responses to improve growth performance of maize under drought stress. *Phyton*, 91: 633–649. <https://doi.org/10.32604/phyton.2022.018074>
- Jameson P.E. 2023. Zeatin: The 60th anniversary of its identification. *Plant Physiology*, 192(1): 34–55. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad094>
- Jing H., Strader L.C. 2019. Interplay of auxin and cytokinin in lateral root development. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 486. <https://doi.org/10.3390/ijms20030486>
- Kapoor D., Bhardwaj S., Landi M., Sharma A., Ramakrishnan M., Sharma A. 2020. The Impact of Drought in Plant Metabolism: How to Exploit Tolerance Mechanisms to Increase Crop Production. *Applied Sciences*, 10(16): 5692. <https://doi.org/10.3390/app10165692>
- Kottmann L., Wilde P., Schittenshelm S. 2016. How do timing, duration, and intensity of drought stress affect the agronomic performance of winter rye? *European Journal of Agronomy*, 75: 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.12.010>
- Kuppu S., Mishra N., Hu R., Sun L., Zhu X., Shen G., Zhang H. 2013. Water-deficit inducible expression of a cytokinin biosynthetic gene *IPT* improves drought tolerance in cotton. *PLoS ONE*, 8(5): e64190. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064190>
- Le D.T., Nishiyama R., Watanabe Y., Vankova R., Tanaka M., Seki M., Ham L.H., Yamaguchi-Shinozaki K., Shinozaki K., Tran L.-S. P. 2012. Identification and Expression Analysis of Cytokinin Metabolic Genes in Soybean under Normal and Drought Conditions in Relation to Cytokinin Levels. *PLoS ONE*, 7(8): e42411. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042411>
- Lee Z.H., Hirakawa T., Yamaguchi N., Ito T. 2019. The Roles of Plant Hormones and Their Interactions with Regulatory Genes in Determining Meristem Activity. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(16): 4065. <https://doi.org/10.3390/ijms20164065>
- Liu Y., Zhang M., Meng Z., Wang B., Chen M. 2020. Research Progress on the Roles of Cytokinin in Plant Response to Stress. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(18): 6574. <https://doi.org/10.3390/ijms21186574>
- Müller M., Munné-Bosch S. 2021. Hormonal impact on photosynthesis and photoprotection in plants. *Plant Physiology*, 185(4): 1500–1522. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab119>
- Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., Tran L.-S.P. 2014. Responses of plants to water stress. *Frontiers in Plant Science*, 5: 86.
- Padilla Y.G., Gisbert-Mullor R., López-Galarza S., Albacete A., Martínez-Melgarejo P.A., Calatayud Á. 2023. Short-term water stress responses of grafted pepper plants are associated with changes in the hormonal balance. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1170021. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1170021>
- Prasad R. 2022. Cytokinin and Its Key Role to Enrich the Plant Nutrients and Growth Under Adverse Conditions — An Update. *Frontiers in Genetics*, 13: 883924. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.883924>
- Prerostova S., Dobrev P.I., Gaudinova A., Knirsch V., Körber N., Pieruschka R., Fiorani F., Brzobohatý B., Cerný M., Spichal L., Humplik J., Vanek T., Schurr U., Vankova R. 2018. Cytokinins: their impact on molecular and growth responses to drought stress and recovery in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Sciences*, 9: 655. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00655>
- Ramireddy E., Hosseini S.A., Eggert K., Gillandt S., Gnad H., von Wirén N., Schmülling T. 2018. Root engineering in barley: Increasing cytokinin degradation produces a larger root system, mineral enrichment in the shoot and improved drought tolerance. *Plant Physiology*, 177: 1078–1095. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00199>
- Reguera M., Peleg Z., Abdel-Tawab Y.M., Tumimbang E.B., Delatorre C.A., Blumwald E. 2013. Stress-induced cytokinin synthesis increases drought tolerance through the coordinated regulation of carbon and nitrogen assimilation in rice. *Plant Physiology*, 163: 1609–1622.
- Sakakibara H. 2021. Cytokinin biosynthesis and transport for systemic nitrogen signaling. *Plant Journal*, 105: 421–430. <https://doi.org/10.1111/tpj.15011>
- Seleiman M.F., Al-Suhaibani N., Ali N., Akmal M., Alotaibi M., Refay Y., Dindaroglu T., Abdul-Wajid H.H., Battaglia M.L. 2012. Drought Stress Impacts on Plants and Different Approaches to Alleviate Its Adverse Effects. *Plants (Basel)*, 10(2): 259. <https://doi.org/10.3390/plants10020259>
- Sharma A., Prakash S., Chattopadhyay D. 2022. Killing two birds with a single stone-genetic manipulation of cytokinin oxidase/dehydrogenase (*CKX*) genes for enhancing crop productivity and amelioration of drought stress response. *Frontiers in Genetics*, 13: 941595. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.941595>
- Sharma A., Landi M., Pugliesi C., Zheng B. 2023. Mechanisms of hormonal-mediated stress regulation in plants. *Plant Gene*, 34: 100417. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2023.100417>
- Todaka D., Zhao Y., Yoshida T., Kudo M., Kidokoro S., Mizoi J., Kodaira K.-S., Takebayashi Y., Kojima M., Sakakibara H., Toyooka K., Sato M., Fernie A.R., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. 2017. Temporal and spatial changes in gene

- expression, metabolite accumulation and phytohormone content in rice seedlings grown under drought stress conditions. *Plant Journal*, 90: 61–78. <https://doi.org/10.1111/tpj.13468>
- Tran L.S., Urao T., Qin F., Maruyama K., Kakimoto T., Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. 2007. Functional analysis of AHK1/ATHK1 and cytokinin receptor histidine kinases in response to abscisic acid, drought, and salt stress in Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(51): 20623–20628. <https://doi.org/10.1073/pnas.0706547105>
- Urban M.O., Planchon S., Hoštičková I., Vanková R., Dobrev P., Renaut J., Klíma M., Vítámvás P. 2021. The Resistance of Oilseed Rape Microspore-Derived Embryos to Osmotic Stress Is Associated With the Accumulation of Energy Metabolism Proteins, Redox Homeostasis, Higher Abscisic Acid, and Cytokinin Contents. *Frontiers in Plant Science*, 12: 628167. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.628167>
- Vedenicheva N., Futorna O., Shcherbatyuk M., Kosakivska I. 2022a. Effect of seed priming with zeatin on *Secale cereale* L. growth and cytokinins homeostasis under hyperthermia. *Journal of Crop Improvement*, 36(5): 656–674, <https://doi.org/10.1080/15427528.2021.2000909>
- Vedenicheva N., Shcherbatyuk M., Kosakivska I. 2022b. Effect of low-temperature stress on the growth of plants of *Secale cereale* (Poaceae) and endogenous cytokinin content in roots and shoots. *Ukrainian Botanical Journal*, 79(3):184–192. <https://doi.org/10.15407/ukrbotj79.03.184>
- Vedenicheva N.P., Shcherbatyuk M.M., Kosakivska I.V. 2023. Cytokinin localization and dynamics in rye plants under chilling and kernel priming with zeatin. *Plant Physiology and Genetics*, 55(1): 74–89. <https://doi.org/10.15407/frg2023.01.074>
- 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. Eds C. Wrigley, I. Batey, D. Miskelly. Cambridge: Woodhead Publishing (Elsevier, UK), pp. 153–178. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100719-8.00007-3>
- Xu Y., Huang B. 2017. Transcriptional factors for stress signaling, oxidative protection, and protein modification in *ipt*-transgenic creeping bentgrass exposed to drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 144: 49–60. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.10.004>
- Xu Y., Burgess P., Zhang X., Huang B. 2016. Enhancing cytokinin synthesis by overexpressing *ipt* alleviated drought inhibition of root growth through activating ROS-scavenging systems in *Agrostis stolonifera*. *Journal of Experimental Botany*, 67(6): 1979–1992. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw019>

Endogenous cytokinins in plants of *Secale cereale* (Poaceae) under the effects of soil drought

N.P. VEDENICHEVA, M.M. SHCHERBATIUK, I.V. KOSAKIVSKA
M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine,
2 Tereshchenkivska Str., Kyiv 01601, Ukraine

Abstract. Due to ongoing global climate changes and anthropogenic stress, soil drought has emerged as a significant threat, hindering plant growth, development, and resulting in crop losses. While phytohormones play a vital role in the formation of stress resistance mechanisms, cytokinins, in particular, remain poorly understood in cultivated cereals. The objective of our study was to investigate the impact of soil drought on plant growth and the homeostasis of endogenous cytokinins in both the aerial parts and roots of winter rye (*Secale cereale*) during the initial stages of vegetation. We aimed to elucidate the relationship between growth processes and the balance of these phytohormones. The plants were cultivated in a phytochamber using sand culture, and drought stress was induced by withholding water from nine-day-old plants for a period of eight days. The shoots and roots of 17-day-old plants were collected when dehydrated plants reached the critical wilting point. The content of endogenous cytokinins was analyzed using HPLC-MS. Our findings revealed that the inhibition of shoot growth and root elongation in stressed plants coincided with a reduction in the content of *trans*-zeatin riboside. This observation suggests that *trans*-zeatin riboside acts as a growth regulator in winter rye under soil drought conditions. Moreover, we observed an elevation in the levels of *trans*-zeatin and isopentenyladenine in the shoots and roots of stressed rye plants, indicating the involvement of these hormones in the formation of a "protective anti-stress block." These results highlight the multifunctional activity of cytokinins and demonstrate their role in regulating various components of the water deficit response. Consequently, our study expands our understanding of the role of cytokinins in the development of stress resistance in cereals.

Keywords: adaptation, cytokinins, growth, *Secale cereale*, soil drought, stress