

ОГЛЯДИ ЛІТЕРАТУРИ

УДК 576.8:631.468

ФІТОГОРМОНИ — ПРОДУКТИ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ МІКРООРГАНІЗМІВ. МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ

С. Б. Дімова

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14027, Україна
e-mail: dimova13@yandex.ua

Представлено огляд наукових публікацій, що стосуються сучасних уявлень щодо продукування фітогормонів мікроорганізмами. Розглянуто переваги та недоліки існуючих аналітичних методів визначення вмісту фітогормонів, які можуть бути застосовані в мікробіологічних дослідженнях.

Ключові слова: *фітогормони, ауксини, цитокініни, гібереліни, синтез фітогормонів мікроорганізмами, методи визначення фітогормонів.*

Фітогормони останнім часом викликають все більший інтерес, насамперед, як природні продукти, що використовуються людством упродовж всього часу його існування і повністю виключають через це невизначеність їх післядії [1]. Наукові знання щодо фітогормонів, накопичені на сьогоднішній день, вкрай важливі для вирішення практичних завдань, що стоять перед рослинницькою галуззю агропромислового виробництва, адже гормональна система рослин є найважливішим фактором регуляції їх онтогенезу [2; 3].

На можливість існування в рослині речовин, функціонально схожих з гормонами тварин, вперше в 1880 р. вказав

Чарльз Дарвін у своїй роботі «Здатність до руху у рослин» [4]. У 30-х роках ХХ століття гормон, відповідальний за реакції, які спостерігав Дарвін, був виділений і ідентифікований як індоліл-3-оцтова кислота (ІОК). Впродовж минулого століття плідно працювали, вивчаючи дію фітогормонів, багато українських та російських вчених, не зважаючи на те, що перспективність цього напрямку неодноразово ставилася під сумнів. Аналізуючи становлення зазначеного напрямку в біологічній науці, не можна не згадати фундатора фітогормонології в Україні — М. Г. Холодного (Інститут ботаніки та Київський університет ім. Тараса Шевченка) [5], М. Х. Чайлахяна [6; 7] (Інститут фізіології рослин РАН), дослідження співробітників цього інституту, виконані під керівництвом О. М. Кулаєвої [8–10], праці В. В. Полевого з колегами [2] (Санкт-Петербурзький державний університет), роботи Г. Р. Кудоярової та С. Ю. Веселова [11; 12] — вчених, які нині плідно працюють в Інституті біології Уфимського наукового центру РАН. В Україні також продовжуються фундаментальні дослідження фітогормонів в Інституті фізіології рослин та генетики НАНУ, в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, Інституті сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН.

Сьогодні під фітогормонами розуміють сполуки регуляторного типу, які синтезуються в мікрокількостях, транспортуються в рослині і індуюють ростові та морфологічні процеси. Речовину відносять до фітогормонів, якщо вона має такі властивості:

- викликає специфічну фізіологічну відповідь (рослинні гормони запускають великі програми розвитку не лише на рівні клітини, але й на рівні тканин, органів, цілої рослини);
- практично не відіграє ролі в основному метаболізмі клітини, а використовується лише для сигнальних функцій;
- синтезується в рослині однією групою клітин, а відповідає на нього інша група (роз'єднання місця син-

тезу і місця дії, тобто сигнальна речовина транспортується); при цьому до синтезу гормонів потенційно здатна будь-яка клітина рослин;

- як правило, є низькомолекулярною сполукою (не більше 2 кДа);
- діє у вкрай низьких концентраціях — 10^{-5} – 10^{-12} моль/л.

Більшість цих властивостей притаманні речовинам, що традиційно вважаються рослинними гормонами і віднесені до п'яти основних груп фітогормонів: ауксини, цитокініни, гібереліни, абсцизини, етилен. Кожна група гормонів виконує характерні функції, подібні у рослин різних видів. Крім п'яти «класичних» груп фітогормонів останнім часом у рослинах відкриті також брасиностероїди, олігосахариди, саліцилова і жасмонова кислоти, окремі фенольні сполуки та деякі інші речовини, що відповідають критеріям фітогормональних речовин [13; 14]. Однак усіма класичними властивостями володіють далеко не всі фітогормони. Виключеннями за деякими властивостями є:

- абсцизини, тому що вони зазвичай діють у точці синтезу, поширюючись лише на невеликі відстані;
- етилен, що транспортується тільки у вигляді свого попередника;
- феноли, саліцилова і жасмонова кислоти, що діють у концентраціях більших, ніж 10^{-5} моль/л.

Загалом у рослинному організмі немає такого процесу, на який би не впливали фітогормони, і цей вплив спостерігається впродовж всього онтогенезу — з моменту проростання насіння і до повного відмирання рослини. Очевидно, з часом список регуляторів росту рослин буде поповнюватись, і це розширить наші уявлення про те, як гормональна система регулює онтогенез рослин.

Серед фітогормонів розрізняють стимулятори та інгібітори росту. Крім того, відома вирішальна роль дозування при застосуванні фітогормональних речовин: стимулятори росту, застосовувані в дозах, що перевищують оптимальні, здатні пригнічувати ростові процеси [15–17]. Дія фітогормону за-

лежно від його дози (сили впливу) графічно виражається кривою. Крива доза-ефект складається з: підпорогової зони, коли доза замала для того, щоб її вплив проявився, зони стимуляції фізіологічних процесів, зони пригнічення та летальної зони. Для гормонів (як і для елементів мінерального живлення і багатьох інших екологічних факторів) характерна наявність плато в середній частині кривої. Це означає, що зміна дози у цьому інтервалі не впливає на ефект, який при цьому спостерігається. Значні відрізки висхідної та низхідної частини графіка вказують на наявність прямо пропорційної залежності ефекту від логарифму дози фітогормонів.

Все, що на сьогодні відомо про фітогормони і механізми їх дії, з успіхом використовується для вирішення практичних завдань рослинництва. Оскільки сьогодні вже ідентифіковано та синтезовано багато фітогормонів, відкриваються певні перспективи для управління ростом і розвитком рослини в напрямку, необхідному людині. Проте багато питань у цій галузі досліджень залишаються нез'ясованими і являють собою безмежне поле діяльності для науковців, причому не тільки для фізіологів рослин, але й для мікробіологів, що займаються проблемами рослинно-мікробної взаємодії, оскільки відомо, що фітогормони продукуються не тільки рослинами, але й багатьма мікроорганізмами. Слід зазначити, що довгий час дослідженням фітогормонів займалися виключно фізіологи рослин, і загально визнаною була думка про те, що рослини продукують їх у необхідних кількостях.

Згідно сучасних уявлень, у будь-якому агроценозі між рослинами і мікроорганізмами відбуваються молекулярні взаємодії, які супроводжуються обміном метаболітами. Враховуючи багатогранність взаємовідносин рослин з мікроорганізмами, слід, утім, зазначити, що важлива роль у цих відносинах належить фітогормонам — продуктам метаболізму мікроорганізмів. Мікроорганізми сприяють формуванню в ризосферній зоні фонду доступних рослині поживних речовин і фізіологічно активних сполук, і у т. ч. фітогормонів. Таким чином, гормони відіграють не тільки роль внутріш-

ньоклітинних сигналів у рослинах, а й виступають посередниками у взаємодії між рослинами та ґрунтовими мікроорганізмами, які є невід'ємною частиною будь-якого агрофітоценозу [18–20]. Зважаючи на те, що фітогормони продукуються не тільки рослинами, а й багатьма мікроорганізмами (причому мікроорганізми утворюють ці речовини у значно більших кількостях, ніж рослини), гормональна регуляція сьогодні розглядається як одна з фундаментальних складових механізму реалізації спадкової програми онтогенезу і філогенезу мікроорганізмів і рослин [21].

Мікроорганізми-продуценти фітогормонів можуть вступати в асоціативні та симбіотичні відносини з рослиною-господарем або викликати розвиток її патогенезу. Бактерії, мікроміцети і водорості утворюють стимулятори росту рослин — фітогормони ауксинової, цитокінінової і гіберелінової природи (табл.). Кількісний та якісний склад фітогормонів, що синтезуються мікроорганізмами, має зазвичай штамову специфічність.

У той же час мікроорганізми синтезують і інші фітогормони і фітогормоноподібні речовини — етилен, абсцизову кислоту, брасиностероїди, олігосахарини, саліцилову і жасмонову кислоти [21]. Таким чином, серед мікроорганізмів виявлено продуценти майже всіх описаних до теперішнього часу фітогормонів, причому деякі з них (наприклад, гібереліни та цитокініни) ідентифіковані в мікробних культурах раніше, ніж у рослинах [22–24].

Фітогормони, що продукуються мікроорганізмами, належать до вторинних метаболітів, які утворюються за участю спеціалізованих ланок метаболічного ланцюга організму-продуцента. Максимальні кількості фітогормонів синтезуються мікроорганізмами у стаціонарній фазі росту, тобто тоді, коли в середовищі вичерпуються поживні речовини і різко загальмовуються процеси клітинного ділення. Це наводить на думку, що виділення фітогормонів бактеріями у несприятливих для їх існування умовах може мати важливе

**Таблиця. Літературні дані щодо продукування
фітогормонів мікроорганізмами в умовах *in vitro***

Види мікроорганізмів	Фітогормони	Вміст фітогормонів у культуральній рідині	Автори публікацій
Комплекс мікроорганізмів <i>Azotobacter chroococcum</i> + <i>Azospirillum spp.</i>	ІОК	39,8–75,4 мг/л	Дегтярєва И. А., 2005
<i>Azospirillum brasiliense</i> Sp 7	ІОК	15 мг/л	Иосиненко А. Д., 1992
<i>Azospirillum brasiliense</i> SR80	ІОК	24 мкг/мл	Бондаренко- ва А. Д., 2009
<i>Azotobacter sp.</i>	ауксини, цитокініни	14–74 мкг/г СБ*	Леонова Н. О., Білявська Л. О., 2010
<i>Enterobacter nimipressuralis</i> 32-3	цитокініни	620 мкг/л	Чайковська Л. О., Баранська М. І., 2009
	ІОК	449 мкг/л	
	гібереліни	18781 мкг/л	
<i>Pseudomonas aurantiaca</i> B-162	гібереліни	13,18 ± 0,34 мг/мл	Максимова Н. П. и др., 2009
<i>Pseudomonas mendocina</i>	ІОК	13,5 мг/л	
<i>Pseudomonas aureofaciens</i> ИБ6	цитокініни	1150 нг/мл	Асабина Е. А., Чет- вериков С. П., 2010
<i>Pseudomonas sp.</i>	ІОК	1,55–10,70 мкг/мл	Цевкелова Е. А., 2005
<i>Mycobacterium sp.</i>	ІОК	1,52–17,4 мкг/мл	
<i>Artrobacter sp.</i>	ІОК	1,18 мкг/мл	
<i>Bacillus sp.</i>	ІОК	2,33–6,30 мкг/мл	
<i>Rhizobium sp.</i>	ІОК	22,40 мкг/мл	
<i>Micrococcus luteus</i>	ІОК	27,97 мкг/мл	
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> УКМ B-6035	ІОК	> 680 мкг/л (770 мкг/г АСБ)	
	цитокініни	≈ 600 мкг/л (670 мкг/г АСБ)	
<i>Bradyrhizobium japonicum</i> B-6018	цитокініни	1550 мкг/г АСБ	Леонова Н. О., Бі- лявська Л. О., 2010

Примітка: * — суха біомаса

функціональне значення, збільшуючи вірогідність утворення асоціації з рослиною.

Серед публікацій останніх років у галузі сільськогосподарської мікробіології все частіше зустрічаються роботи, присвячені дослідженню мікроорганізмів-продуцентів речовин фітогормональної природи [25–48]. Доведено, що вплив на ріст і розвиток рослини реалізується через зміни концентрації фітогормонів. Вміст гормону у тій чи іншій частині рослини визначається його продукуванням (причому як самою рослиною, так і ґрунтовими та ендofітними мікроорганізмами), транспортом, взаємоперетворенням активних і неактивних форм, а також його розпадом [9]. Для отримання стабільного передбачуваного результату при застосуванні фітогормональних речовин (або їх продуцентів-мікроорганізмів) важливо правильно розрахувати дозу екзогенно застосовуваного фітогормону, для чого необхідно попередньо оцінити ендогенний статус оброблюваної рослини. Проблема ускладнюється також тим, що при введенні ззовні відбувається не просто підсумовування екзогенного і ендогенного гормону, але й активація процесів, направлених на його метаболізацію та можливу зміну швидкостей синтезу й розпаду інших гормонів [32].

Загалом уже не викликає сумніву, що левова частка агрономічно корисних мікроорганізмів є такими не тільки завдяки тому, що вони активно фіксують азот повітря або мінералізують важкодоступні сполуки фосфору, а й завдяки здатності продукувати біологічно активні речовини, зокрема фітогормони. Тому необхідність проведення досліджень мікроорганізмів-продуцентів речовин фітогормональної природи, що можуть стати потенційними біоагентами мікробних препаратів рістстимулювальної дії, не викликає сумніву. Вони дадуть змогу розробити ефективні прийоми оптимізації гормонального стану рослин, що позитивно вплине на продукційний процес сільськогосподарських культур [49].

Простота отримання природних фітогормонів мікробного походження, відносно невисока їх вартість, здатність до

детоксикації у рослинному організмі і легкого зв'язування в клітині та катаболізації обумовлюють значні перспективи використання цих речовин у рослинництві. Разом з тим продукування фітогормонів *in vitro* ще не означає, що мікроорганізми синтезують їх у природних умовах і що їх поглинання може суттєво вплинути на рівень гормонів у рослині. Тому при вивченні дії мікроорганізмів-продуцентів фітогормонів важливо також показати, що під впливом інокуляції відбувається зміна вмісту гормонів у рослинах [50].

Невирішених проблем, пов'язаних із застосуванням фітогормонів мікробної природи для оптимізації продукційного процесу сільськогосподарських культур ще немало. Тому дослідження в цій області не призупиняються і потребують досконалих методів визначення вмісту ендогенних фітогормонів у рослинах та екзогенних фітогормонів, що продукуються мікроорганізмами і потенційно можуть бути використані рослинами. Необхідність таких методів досліджень обумовлена тим, що вплив речовин фітогормональної природи на рослину передусім залежить від їх концентрації та співвідношення цієї концентрації з рівнем інших фітогормонів.

Дослідження фітогормонів належать до досить складних завдань, що вимагають значних матеріальних і часових витрат. Це, по-перше, пов'язано з тим, що фітогормони накопичуються (і рослинами, і мікроорганізмами) у складному багатокомпонентному комплексі, який містить зазвичай високо лабільні речовини. Фонди будь-яких метаболітів (фітогормонів у т. ч.) представляють собою динамічну рівновагу між надходженням, витрачанням та проміжним резервуаром. Збільшення розміру фонду може бути наслідком як збільшення синтезу, так і зменшення витрат речовини при незмінному надходженні. І, навпаки, низький вміст метаболіту в рівній мірі може бути результатом слабкого синтезу або дуже швидкого переходу в неактивні форми [51].

Не зважаючи на майже столітню історію дослідження фітогормонів, дотепер не існує чітко регламентованої методики кількісного визначення фітогормонів, яка була б надій-

но захищена від одержання артефактів. Відсутність надійної та доступної системи лабораторної оцінки вмісту цих речовин — проблема для науковців, що працюють у галузі сільськогосподарської мікробіології. Така система необхідна для селекції перспективних штамів-продуцентів фітогормонів, для контролювання якості мікробних препаратів і біокомпостів за вмістом речовин фітогормональної дії та для визначення вмісту фітогормонів у різних типах ґрунтів залежно від дії біотичних та абіотичних чинників. Хоч аналізи на вміст рослинних гормонів залишаються вузьким місцем у фізіології рослин і ґрунтовій мікробіології через слідові концентрації цих речовин та наявність складних компонентів у матеріалі, що аналізується, проте в останні роки досягнуто значного прогресу в розвитку методів екстракції, очищення та виявлення фітогормонів.

Серед вимог, які висувають сьогодні до аналітичних методів визначення фітогормонів, можна виділити такі: специфічність та вибірковість визначення індивідуального гормону чи групи гормонів, чутливість, що дозволяла б визначати пікограмові концентрації фітогормонів, та оперативність отримання результатів.

Методи дослідження природних регуляторів росту досить стрімко вдосконалювалися впродовж останніх десятиліть. Якщо у 70-х роках минулого століття науковці були озброєні простими і доступними, але далеко не досконалими методами біотестування, то сьогодні у багатьох наукових центрах застосовують сучасні точні методи, що потребують складного та дорогого обладнання. Отже, сьогодні вибір методики конкретного дослідження визначається як завданнями, що стоять перед дослідниками, так і технічними можливостями лабораторії. Наприклад, порівняльна оцінка вмісту того чи іншого класу фітогормонів у варіантах досліджує може бути забезпечена за допомогою специфічних біотестів. Проте ідентифікація окремих фітогормонів у межах класу, визначення їх кількісного вмісту потребує, як правило, використання інструментальних методів.

Загальна схема визначення фітогормонів включає такі етапи:

- відбір проб;
- екстрагування фітогормонів з проби, що аналізується;
- відділення фітогормонів від супутніх домішок;
- якісна ідентифікація та кількісне визначення [52].

Об'єктивна оцінка вмісту фітогормону в досліджуваному матеріалі залежить не тільки від вибору достатньо чутливого і селективного методу аналізу, а, в першу чергу, визначається репрезентативністю відібраної проби. Відбору проб слід приділити максимум уваги, зважаючи на високу вартість аналізів, що складається з вартості реактивів, амортизації приладів та праці висококваліфікованих спеціалістів.

Відібраний для аналізу матеріал фіксують, тому що фітогормони належать до нестійких сполук і при зберіганні матеріалу, призначеного для аналізування, метаболізуються. Через це у разі необхідності зберігання матеріалу (навіть упродовж короткого терміну) застосовують його фіксацію. Фіксований матеріал використовується для екстракції гормонів. Одним із кращих методів фіксації є обробка рідким азотом з наступним ліофільним висушуванням. Висушений фіксований матеріал може зберігатися без суттєвих змін фітогормонального статусу впродовж року, будучи поміщеним в ексикатор і холодильник з температурою нижче 0 °С. Проби, зафіксовані рідким азотом, що не піддавались ліофілізації, можна зберігати впродовж місяця за температури -18 °С [53].

До недоліків більшості методів кількісного визначення вмісту фітогормонів слід віднести те, що вони потребують попереднього високоякісного та багаторазового очищення зразків від домішок, а всі відомі способи очищення зазвичай призводять до втрат і без того мізерної кількості фітогормонів.

Методи визначення вмісту фітогормонів можна поділити на 3 групи: біотестування, фізико-хімічні та імунологічні (рис.). Розглянувши переваги та недоліки існуючих аналі-

тичних методів, дослідники можуть обрати серед них прийнятні для конкретних досліджень.



Рис. Методи визначення вмісту фітогормонів.

Біотестування [54–62] — це рутинні методи, які базуються на тій радикальній властивості гормонів, що при контакті їх з чутливими рослинами або ізольованими органами рослин величина відповіді (це може бути прискорення росту, накопичення пігментів і т. ін.) залежить від кількості введеного гормону. Таким чином, приводячи в контакт з рослиною тестований екстракт рослин або культуральну рідину бактерій і порівнюючи реакцію об’єкта на зразок і на стандарт гормону, можна оцінити кількість фітогормону в зразку. Об’єкти, що використовуються для біотестування, повинні відповідати таким вимогам: 1) стандартність вихідного матеріалу і його реакцій на фітогормони; 2) висока чутливість до тестованої речовини — тест-об’єкт повинен реагувати на її маленькі концентрації, а це можливо тільки при низькій вихідній концентрації речовини в клітинах; 3) специфічність (реакція тільки на певну групу фітогормонів); 4) відтворюва-

ність результатів. За характером фізіологічних реакцій на фітогормони біотести ділять на ростові (вигинання та подовження колеоптилів у злаків), пігментні (синтез хлорофілу або каротиноїдів) та ферментні (синтез ферментів, наприклад, α -амілази). У порівнянні з фізико-хімічними методами продуктивність біотестів значно вища, але досліди з біотестування тривають у кращому випадку не менше доби, а часто і набагато довше. Наприклад, при роботі з культурою тканини (це один із біотестів на вміст цитокінінів) результатів доводиться чекати близько місяця. І, нарешті, суттєвим недоліком методів біотестування є те, що вони погано відтворюються (пояснюється тим, що дослідник у цих аналізах має справу з рослинами або їх органами і тканинами, які представляють собою складні біологічні системи, що дуже важко стандартизувати). Крім того, фактично методи біотестування є напівкількісними, тому вони найчастіше відіграють допоміжну роль у виявленні фітогормонів. Біотести забезпечують дослідників найпершою інформацією про наявність цих речовин у рослині. Їх широко застосовують на початковому етапі пошуку нових гормонів та на заключній стадії аналітичної роботи, пов'язаної з фізіологічною характеристикою виявленого фітогормону [63]. Однією з безперечних переваг біотестування є мінімальна потреба технічного оснащення. До недоліків методу слід віднести завищення реального вмісту фітогормонів через прояви гормоноподібної активності деяких класів вторинних метаболітів рослин та мікроорганізмів.

В останні 30–40 років наші знання про фітогормони надзвичайно примножилися завдяки аналітичним можливостям потужних приладів. Чутливість сучасних методів настільки висока, що невелика кількість речовини може бути легко зареєстрована та ідентифікована. Проте всі ці інструментальні методи базуються на відомих і досить простих фізичних та хімічних законах.

Аналізовані зразки, що містять фітогормони, являють собою суміші. І навіть при використанні для виділення певних сполук ефективних способів пробопідготовки аналізува-

ти все ж доводиться суміш. Тому необхідною умовою успіху при дослідженні природних фітогормонів є ретельна підготовка матеріалу до аналізу. За допомогою органічних розчинників з матеріалу, що аналізується, отримують екстракти, які крім фітогормонів містять різноманітні сполуки, що може заважати визначенню вмісту гормонів. Для відокремлення фітогормонів від домішок використовують *хроматографію* — метод розділення, що базується на диференційному багаторазовому розподілі суміші речовин між двома фазами (рухомою і нерухомою), які не змішуються між собою.

Очевидно, одним з кращих методів, що можуть бути використані для дослідження фітогормонів, є *високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)* [64–66]. Даний вид хроматографії сьогодні найчастіше використовується при дослідженні складних сумішей речовин (до яких належать як рослинні екстракти, так і культуральні рідини мікроорганізмів). Це обумовлено універсальністю методу, оскільки він може застосовуватися для розділення практично будь-яких (крім високомолекулярних) сполук. Процес аналізу проби проходить у два етапи: поділ проби на складові компоненти за допомогою хроматографічної колонки та детектування і вимірювання вмісту кожного компонента.

Високоєфективна тонкошарова хроматографія (сучасна форма ТШХ) [67–68] відрізняється повністю автоматичним скануванням пластин для ТШХ. Принцип роботи сучасного скануючого денситометра базується на реєстрації плям розділених фракцій нанесеної на хроматографічну пластину аналізованої суміші при її освітленні стаціонарним світловим променем у видимій області або в УФ-діапазоні при довжинах хвиль 254 і 365 нм; при цьому відносна віддаленість плям від нижнього краю пластини характеризує хімічну природу аналізованих речовин, а інтенсивність плями — їх кількість.

Одним із сучасних методів, що характеризуються високою чутливістю, інформативністю та надійністю є *мас-спектрометрія* [69]. Останнім часом мас-спектрометрія за-

знала значного технологічного підйому, що дозволяє застосовувати її для визначення багатьох біологічно активних молекул. Можливості мас-спектрометра дозволяють визначити масу молекули, вимірюючи відношення маси до заряду її іону (m/z). Відбувається іонізація молекул, генеруються іони, потім вони електростатично спрямовуються в аналізатор маси, де диференціюються відповідно своєму m/z , і детектуються. Результатом іонізації молекул, поділу і детектування іонів є спектр, за яким можна визначити молекулярну масу і одержати деяку інформацію про будову речовини та провести її ідентифікацію.

Сьогодні при визначенні вмісту фітогормонів широко використовується *поєднання мас-спектрометрії з різними хроматографічними методами* [70–74]. Хромато-мас-спектрометрія є гібридним методом аналізу, за якого процеси розділення і аналізування проходять незалежно один від одного. Підключення до мас-спектрометра хроматографа полегшує інтерпретацію спектрів, тому що перед бомбардуванням суміш розділяється на індивідуальні компоненти. Тому мас-спектрометр вважають відмінним детектором для хроматографії. Коли ці два прилади безпосередньо з'єднують в єдину хромато-мас-спектрометричну систему, її можливості суттєво перевищують суму можливостей кожного приладу. Хромато-мас-спектрометрія — мультиплексний метод визначення фітогормонів у зразку, що дозволяє проводити моніторинг пулу фітогормонів у режимі реального часу. Сучасні мас-спектрометри укомплектовують комп'ютерними програмами, що містять банки мас-спектральних даних для ідентифікації речовин. Основним недоліком цього методу, як і багатьох інших, є необхідність виконувати складну пробопідготовку [75–78].

На жаль, методи ВЕРХ, спектроденситометрії та хромато-мас-спектрометрії у звичайних біологічних лабораторіях не набули широкого розповсюдження через їх високу вартість. Спільним для більшості методів визначення фітогормонів є трудоємність і тривалість проведення процедур ана-

лізу. Незважаючи на безперечні переваги фізико-хімічних методів і їх незамінність в окремих випадках, слід визнати, що вони абсолютно непридатні тоді, коли потрібно вести оперативний контроль вмісту фітогормонів. Висока трудомісткість цих методів не дозволяє швидко аналізувати велику кількість зразків, тому абсолютно очевидна нагальна потреба в оперативних експрес-методах кількісного визначення регуляторів росту рослин.

В основі *імунохімічних методів* знаходиться взаємодія специфічних антитіл з відповідними речовинами, які в даній системі виступають як антигени. Антитіла утворюються в організмі тварин у відповідь на введення чужорідної речовини, тобто імунізацію. Специфічність антитіл дозволяє їм «впізнавати» відповідні антигени і кількісно взаємодіяти з ними з утворенням комплексу антиген-антитіло.

Радіоімунний аналіз (PIA) — метод кількісного визначення фітогормонів у біологічних рідинах, що базується на конкурентному зв'язуванні стабільних і аналогічних їм мічених радіонуклідом речовин зі специфічними зв'язуючими системами, з подальшою детекцією на спеціальному лічильнику — радіоспектрометрі [79–82]. Для мітки антитіл або антигенів найчастіше використовують ізотоп йоду. PIA теж передбачає використання дорогого устаткування, а саме гамма-лічильників, до того ж радіоактивні матеріали, що застосовуються для аналізу, мають відносно короткий термін придатності діагностичного набору (це пов'язано з розпадом радіоактивної мітки). Ці особливості радіоімунного аналізу вважаються його основними недоліками, тому метод поступово витісняють модифікації імуноферментного аналізу, які дозволяють домогтися чутливості PIA без використання в роботі радіоактивних ізотопів.

Вимогам експресності і простоти відповідає, на наш погляд, *метод твердофазного імуноферментного аналізу (ТІФА)*. Фітогормони — далеко не єдиний клас біологічно активних речовин, кількість яких визначають за допомогою імунохімічних методів. Наприклад, імунохімічні тест-систе-

ми для визначення гормонів тварин і людини розроблені вже давно і налагоджено їх промисловий випуск. Однак вони довгі роки залишалися за межами інтересів дослідників, що вивчали фітогормони, оскільки рослинні гормони за своєю природою є гаптенами, тобто неповноцінними імуногенами, що нездатні викликати імунну відповідь у тварин. Тим не менше, на початку 80-х років минулого століття було описано отримання імунної сироватки до ауксинів, а потім до цитокінінів, гіберелінів та АБК.

Сьогодні продовжується процес удосконалення імунних методів тестування фітогормонів [83–96]. З часом відбувається ґрунтова перебудова всієї системи аналізу, але суть методу залишається незмінною:

- отримання кон'югату фітогормону з білком або іншим носієм для надання йому властивостей антигену;
- отримання імунної антисироватки на цей кон'югат та використання її для визначення вмісту фітогормону різними способами [90].

Для визначення вмісту фітогормонів застосовують метод непрямого твердофазного ІФА, що базується на конкуренції між фітогормоном, що визначається, та іммобілізованим на полістироловій поверхні антигеном (фітогормон-білковий кон'югат) за центри зв'язування антитіл. Після встановлення рівноваги в системі і розділення компонентів імунохімічної реакції утворений на поверхні планшету комплекс антиген-антитіло виявляється за допомогою антивидових антитіл, кон'югованих з молекулою ферменту (пероксидаза хрому). При цьому інтенсивність хромофорної відповіді ферменту-маркера пропорційна концентрації іммобілізованих антитіл і обернено пропорційна вмісту фітогормону-конкурента у досліджуваному розчині.

Тривалий час використання тест-систем, розроблених для визначення вмісту фітогормонів, не зважаючи на відому специфічність імуноферментного методу як такого, передбачало попереднє багатоступеневе очищення зразків. Сьогодні

при створенні таких тест-систем дослідники шукають можливості для відмови від складного етапу очищення зразків. Так, наприклад, співробітниками кафедри фізіології рослин Московського державного університету розроблено дві імунохімічні системи для визначення індоліл-3-оцтової кислоти, паралельне використання яких дозволяє без стадії метилювання і фракціонування досліджуваного зразка кількісно визначати вільну та запасну форму ІОК [97; 98].

Можна сподіватися, що застосування нових і все більш досконалих аналітичних методів кількісного визначення вмісту фітогормонів допоможе дослідникам відповісти на ті питання щодо фітогормонів рослин та мікроорганізмів, на які поки що не маємо відповіді.

1. Дейнека В. И. Хроматографические методы в исследовании биологически активных веществ растительных материалов : дис. ... д-ра хим. наук : 05.11.11 / Дейнека Виктор Иванович. — Белгород, 2008. — 318 с.

2. Полевой В. В. Фитогормоны / В. В. Полевой. — Л. : Изд-во ЛГУ, 1982. — 248 с.

3. Фізіологія рослин. Проблеми фітогормонології [під ред. К. М. Ситника]. — К. : Фітосоціоцентр, 2007. — 420 с.

4. Дарвин Ч. Способность к движению у растений / Чарльз Дарвин. — М.–Л. : Изд-во АН СССР, 1941. — (Соч. Чарльза Дарвина). — Т. 8. — С. 153–517.

5. Холодный Н. Г. Фитогормоны. Очерки по физиологии гормональных явлений в растительном организме / Н. Г. Холодный. — К. : Изд-во АН УССР, 1939. — 264 с.

6. Чайлахян М. Х. Гормональная теория развития растений / М. Х. Чайлахян. — М.–Л. : Изд-во АН СССР, 1937. — 200 с.

7. Гормональная регуляция онтогенеза растений / АН СССР. Ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева ; отв. ред. М. Х. Чайлахян. — М. : Наука, 1984. — 240 с.

8. Кулаева О. Н. Цитокинины, их структура и функции / О. Н. Кулаева. — М. : Наука, 1973. — 263 с.

9. Кулаева О. Н. Новейшие достижения и перспективы изучения механизма действия фитогормонов и их участия в сигналь-

ных системах целого растения / О. Н. Кулаева, В. В. Кузнецов // Вестник РФФИ. — 2004. — № 2. — С. 12–26.

10. Кулаева О. Н. Новейшие достижения в изучении механизма действия фитогормонов / О. Н. Кулаева, О. С. Прокопцева // Биохимия. — 2004. — Т. 69, № 3. — С. 293–310.

11. Иммуноферментная тест-система для определения цитокининов / [Г. Р. Кудоярова., С. Ю. Веселов, Н. Н. Каравайко и др.] // Физиология растений. — 1990. — Т. 37, № 1. — С. 193–199.

12. Веселов С. Ю. Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста растений / С. Ю. Веселов. — Уфа : Изд-е Башкирского ун-та, 1998. — 138 с.

13. Creelman R. A. Oligosaccharins, brassinolides and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression / Creelman R. A., Mullet J. E. // The plant cell. — 1997. — Vol. 9. — P. 1211–1223.

14. Хрипач В. А. Перспективы практического применения brassinosterоидов — нового класса фитогормонов (обзор) / В. А. Хрипач, В. Н. Жабинский, Ф. А. Лахвич // С.-х. биология. — 1995. — № 1. — С. 3–11.

15. Чайлахян М. Х. Гормональная регуляция роста и развития высших растений / М. Х. Чайлахян // Успехи соврем. биологии. — 1982. — Т. 95, № 1. — С. 23–34.

16. Дефлинг К. Гормоны растений. Системный подход / под ред. В. И. Кефели ; пер. с нем. Н. С. Гельман. — М. : Мир, 1985. — 304 с.

17. Полевой В. В. Внутриклеточные и межклеточные системы регуляции растений / В. В. Полевой // Соросовский образовательный журнал. — 1997. — № 9. — С. 6–11.

18. Красильников Н. А. Фитогормональное действие почвенных бактерий / Н. А. Красильников // Докл. АН СССР. — 1944. — Т. 45. — С. 87.

19. Costacurta A. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria / A. Costacurta, J. Vanderleyden // Critical rew. microbiol. — 1995. — Vol. 21. — P. 1–18.

20. Бабьева И. П. Биология почв / Бабьева И. П., Зенова Г. М. — М. : Изд-во МГУ, 1989. — 336 с.

21. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов (обзор) / Е. А. Цевкелова, С. Ю. Климова, Т. А. Чердынцева,

А. И. Нетрусов // Прикладная биохимия и микробиология. — 2006. — Т. 42, № 3. — С. 261–268.

22. Mohadevan A. Growth regulators, microorganisms and diseased plants / A. Mohadevan. — New Delhi : Acad. Press, 1984. — 468 p.

23. Микроорганизмы — продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение (обзор) / [Цвекелова Е. А., Климова С. Ю., Чердынцева Т. А. и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. — 2006. — Т. 42, № 2. — С. 133–143.

24. Функціонування мікробних ценозів ґрунту в умовах антропогенного навантаження / [Андреюк К. І., Іутинська Г. О., Антипчук А. Ф. та ін.] — К. : Обереги, 2001. — 240 с.

25. Асабина Е. А. Исследование оптимальных условий культивирования бактерий рода *Pseudomonas* — продуцентов биологически активных веществ : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.23 / Е. А. Асабина ; Институт биологии Уфимского научного центра РАН и ГУП «Опытный завод Академии наук Республики Башкортостан». — Уфа, 2009. — 23 с.

26. Бутова Ю. А. Влияние сроков хранения бактериальной суспензии *Pseudomonas aureofaciens* на ростстимулирующие свойства / Ю. А. Бутова, Т. М. Бабакина, С. А. Ибрагимова // Достижения и перспективы развития биотехнологии : матер. междунар. науч. конф. (Саранск, МГУ им. Огарёва, 3–5 октября 2012 г.). — Саранск, 2012. — С. 46–47.

27. Участие фитогормонов в формировании взаимоотношений проростков пшеницы с эндофитным штаммом *Bacillus subtilis* 11ВМ / А. А. Егоршина, Р. М. Хайруллин, А. Р. Сахабутдинова, М. А. Лукьянцев // Физиология растений — 2012. — Т. 59, № 1. — С. 148–154.

28. Леонова-Ерко Е. И. Влияние корневых экзометаболитов на синтез физиологически активных веществ ризобактериями : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.23 / Е. И. Леонова-Ерко ; Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии РАСХН. — СПб., 2000. — 22 с.

29. Patten C. L. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid / CL Patten, BR Glick // Can. J. microbiol. — 1996. — Vol. 42, № 3. — P. 207–220.

30. Patten C. L. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system / CL Patten, BR Glick // Appl. environ. microbiol. — 2002. — Vol. 68, № 8. — P. 3795–3801.

31. Чайковська Л. О. Бактерія *Enterobacter nimipressuralis* 32-3 — продуцент фітогормонів / Л. О. Чайковська, М. І. Баранська // С.-г. мікробіологія : міжвід. темат. наук. зб.— Чернігів : ЦНТЕІ, 2009. — Вип. 9. — С. 68–75.

32. Мерзаева О. В. Образование ауксинов эндофитными актинобактериями озимой ржи / О. В. Мерзаева, И. Г. Широких // Прикладная биохимия и микробиология. — 2010. — Т. 46, № 1. — С. 51–57.

33. Леонова Н. О. Дослідження здатності деяких вільноіснуючих та симбіотичних ґрунтових мікроорганізмів синтезувати фітогормони / Н. О. Леонова, Л. О. Білявська, І. В. Драговоз // Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві : мат. VI наук. конф. мол. вчених (Чернігів, Інститут с.-г. мікробіології УААН, 29–30 вересня 2009 р.). — Чернігів, 2009. — С. 55–57.

34. Дегтярёва И. А. Эколого-физиологическая регуляция взаимодействия в агроценозе растений рода *Amaranthus* L. и diaзотрофов : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 06.01.04, 03.00.16 / И. А. Дегтярёва ; Всерос. науч.-исслед. ин-т агрохимии им. Д. Н. Прянишникова. — М., 2005. — 48 с.

35. Иосиненко А. Д. Продукция фитогормонов бактериями *Azospirillum brasilense* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07 / А. Д. Иосиненко ; Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН. — Саратов, 1992. — 23 с.

36. Сравнение действия штаммов бактерий, различающихся по способности синтезировать цитокинины, на рост и содержание цитокининов в растениях пшеницы / [Т. Н. Архипова, С. Ю. Веселов, А. И. Мелентьев и др.] // Физиология растений. — 2006. — Т. 53, № 4. — С. 567–574.

37. Биохимические критерии оценки агрономически значимых свойств бацилл, используемых при создании микробиологических препаратов / В. К. Чеботарь, В. Б. Петров, А. И. Шапошников, Л. В. Кравченко // С.-х. биология. — 2011. — № 3. — С. 119–122.

38. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce

plants / [Arkhipova T. N., Veselov S. U., Melentiev A. I. et al.] // Plant and soil. — 2005. — Vol. 272. — P. 201–209.

39. Сравнение действия штаммов бактерий, различающихся по способности синтезировать цитокинины, на рост и содержание цитокининов в растениях пшеницы / [Т. Н. Архипова, С. Ю. Веселов, А. И. Мелентьев и др.] // Физиология растений. — 2006. — Т. 53, № 4. — С. 506–510.

40. Влияние микроорганизмов, продуцирующих цитокинины, на рост растений / [Т. Н. Архипова, С. Ю. Веселов, А. И. Мелентьев и др.] // Биотехнология. — 2006. — № 4. — С. 50–55.

41. Bottini R. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase / Ruben Bottini, Fabricio Cassán, Patricia Piccoli // Appl. microbiol. biotechnol. — 2004. — Vol. 65. — P. 497–503.

42. Costacurta A. Synthesis of phytohormones by plant-associated bacteria / A. Costacurta, J. Vanderleyden // Crit. rev. microbiol. — 1995. — Vol. 21, № 1. — P. 1–18.

43. Spaepen S. Auxin and plant-microbe interactions / Stijn Spaepen and Jos Vanderleyden // Cold Spring Harbor perspect. biol. — 2011. — Vol. 3, № 4. — P. 1–13.

44. Рамезанпур М. Р. Образование индолилуксусной кислоты местными штаммами флюоресцирующих псевдомонад, изолированных из ризосферы риса, культивируемого в северных провинциях Ирана / М. Р. Рамезанпур // Учёные записки Ереванского гос. ун-та. — 2009. — № 2. — С. 59–64.

45. Ёылдырым Е. А. Гетероферментативные молочнокислые бактерии и перспективы их использования в растениеводстве и кормопроизводстве : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07 / Е. А. Ёылдырым ; ГНУ ВНИИСХМ. — СПб., 2009. — 22 с.

46. Моргун В. В. Ростстимулирующие ризобактерии и их практическое применение / В. В. Моргун, С. Я. Коць, Е. В. Кириченко // Физиол. и биохим. культурн. растений. — 2009. — Т. 41, № 3. — С. 187–207.

47. Salamone G. I. E. Cytokinin production by plant growth promoting rhizobacteria and selected mutants / Salamone G. I. E., Hynes R. K., Nelson L. M. // Canad. J. microbiol. — 2001. — Vol. 47. — P. 404–411.

48. Cytokininproduction by *Paenibacillus polymyxa* / S. Timusk, B. Nicander, U. Granhall, E. Tibberg // Soil. biol. biochem. — 1999. — Vol. 31. — P. 1847–1852.

49. Иванчина Н. В. Влияние ростстимулирующих бактерий (PGPB) на продуктивность и устойчивость растений / Иванчина Н. В., Гарипова С. Р. // Агрехимия. — 2012. — № 7. — С. 87–95.

50. Кудоярова Г. Р. Образование фитогормонов почвенными и ризосферными бактериями как фактор стимуляции роста растений / Г. Р. Кудоярова, И. К. Курдиш, А. И. Мелентьев // Известия Уфимского научного центра. — 2011. — № 3–4. — С. 5–17.

51. Коваль С. Ф. Растение в опыте / С. Ф. Коваль, В. П. Шаманин. — Омск : Омскбланкиздат, 1999. — 204 с.

52. Методические рекомендации по определению фитогормонов. — Киев : Ин-т ботаники АН УССР, 1988. — 78 с.

53. Определение биологической активности свободных ауксинов и ингибиторов роста в растительном материале / В. И. Кефели, Р. Х. Турецкая, Э. М. Коф, П. В. Власов // Методы определения фитогормонов, ингибиторов роста, дефолиантов и гербицидов : сборник / под ред. Ю. В. Ракитина. — М. : Наука, 1973. — 199 с.

54. Плотникова І. В. Визначення ауксинів у тесті на вигнання колеоптилів *Avena* L. / І. В. Плотникова // Укр. ботан. журн. — 1977. — Т. 34, № 6. — С. 630–631.

55. Бойчук О. Б. Застосування тесту коротких відрізків пшеничних колеоптилів для визначення ауксинів / О. Б. Бойчук, Л. М. Зайцева // Укр. ботан. журн. — 1977. — Т. 34, № 6. — С. 632–636.

56. Турецька Р. Х. Біотест на ауксини: вкорінення листкових черешків *Phaseolus vulgaris* L. / Р. Х. Турецька, В. І. Кефелі // Укр. ботан. журн. — 1977. — Т. 34, № 6. — С. 636–637.

57. Кефелі В. І. Визначення гіберелінів у біотесті на проростках *Pisum sativum* L. / В. І. Кефелі, Л. І. Яніна, Н. М. Жлоба // Укр. ботан. журн. — 1977. — Т. 34, № 6. — С. 637–638.

58. Кефелі В. І. Визначення гіберелінів у біотесті на гіпокотилях *Lactuca sativa* L. / В. І. Кефелі, Л. І. Яніна, Н. М. Жлоба // Укр. ботан. журн. — 1977. — Т. 34, № 6. — С. 638–639.

59. Кефелі В. І. Визначення цитокінінів у біотесті на калусах *Nicotiana tabacum* L. / В. І. Кефелі, Л. І. Яніна, Н. М. Жлоба // Укр. ботан. журн. — 1977. — Т. 34, № 6. — С. 641–642.

60. Процко Р. Ф. Визначення цитокинінів на етиольованих сім'ядолях *Cucumis* L. / Р. Ф. Процко, В. Б. Варшавська // Укр. ботан. журн. — 1977. — Т. 34, № 6. — С. 644.

61. Комплексный метод определения природных регуляторов роста: биотесты / [В. И. Кефели, М. Х. Чайлахян, Р. Х. Турецкая и др.] // Физиология растений. — 1975. — Т. 22, № 6. — С. 1291–1298.

62. Участие фитогормонов в формировании взаимоотношений проростков пшеницы с эндофитным штамом *Bacillus subtilis* 11ВМ / А. А. Егоршина, Р. М. Хайруллин, А. Р. Сахабутдинова, М. А. Лукьянцев // Физиология растений. — 2012. — Т. 59, № 1. — С. 148–155.

63. Иммуноферментный анализ регуляторов роста растений: применение в физиологии растений и экологии / [Коллектив авторов]. — Уфа : БНЦ УрО АН СССР, 1990. — 164 с.

64. Савинский С. В. Определение содержания зеатина, индоллил-3-уксусной и абсцизовой кислот в одной растительной пробе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / С. В. Савинский, И. В. Драговоз, В. К. Педченко // Физиол. и биохим. культурн. растений. — 1991. — Т. 23, № 6. — С. 611–619.

65. Нефедьева Е. Э. Определение содержания гиббереллина А3 в растениях методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Е. Э. Нефедьева, Н. Г. Мазей // Прикл. биохимия и микробиология. — 2009. — Т. 45, № 4. — С. 502–507.

66. Nieto K. F. Biosynthesis of cytokinins by *Azotobacter chroococcum* / K. F. Nieto, W. T. Frankenberger Jr. // Soil Biol. Biochem. — 1989. — Vol. 21, № 7. — P. 967–972.

67. Коць С. Я. Способность штаммов и Tn5-мутантов *Bradyrhizobium japonicum* к синтезу ИУК и АБК *in vitro* / С. Я. Коць, Н. В. Волкогон, Е. А. Грищук // Физиолог. и биохим. культ. растений. — 2010. — Т. 42, № 6. — С. 491–496.

68. Драговоз И. В. Синтез экзогенных цитокининов ризобиями сои различной симбиотической активности // И. В. Драговоз, Н. О. Леонова, Г. А. Иутинская // Микробиол. журн. — 2011. — Т. 73, № 4. — С. 29–35.

69. Клюев Н. А. Современные методы масс-спектрометрического анализа органических соединений / Н. А. Клюев, Е. С. Бродский // Ж. Рос. хим. об-ва им. Д. И. Менделеева. — 2002. — Т. XLVI, № 4. — С. 57–63.

70. Simultaneous determination of multiple phytohormones in plant extracts by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry / [Durgbanshi A., Arbona V., Pozo O. et al.] // J. agric. food chem. — 2005. — Vol. 53, № 22. — P. 8437–8442.

71. A method for profiling classes of plant hormones and their metabolites using liquid chromatography – electrospray ionization tandem mass spectrometry: an analysis of hormone regulation of thermodormancy of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds / [Chiwocha S. D., Abrams S. R., Ambrose S. J. et al.] // Plant J. — 2003. — Vol. 35, № 3. — P. 405–417.

72. Lopez-Carbonell M. A rapid method for analysis of abscisic acid (ABA) in crude extracts of water stressed *Arabidopsis thaliana* plants by liquid chromatography – mass spectrometry in tandem mode / M. Lopez-Carbonell, O. Jauregui // Plant physiol. biochem. — 2005. — Vol. 43, № 4. — P. 407–411.

73. Delatour T. Limits of suspicion, recognition and confirmation as concepts that account for the confirmation transitions at the detection limit for quantification by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / T. Delatour, P. Mottier, E. Gremaud // J. chromatogr. a. — 2007. — № 1–2. — P. 103–110.

74. Hussain A. Interaction of bacterial cytokinins and IAA in the rhizosphere may alter phytostimulatory efficiency of rhizobacteria / Anwar Hussain, Shahida Hasnain // World J. of microbiol. and biotechnol. — 2012. — Vol. 27, № 11. — P. 2645–2654.

75. Пунегов В. Количественное определение фитогормонов методами газо-жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии / В. Пунегов, И. Груздев // Вестник Института биологии Коми НЦ УрО РАН. — 2010. — № 3. — С. 18–22.

76. Fu JiHong Progress in quantitative analysis of plant hormones / [JiHong Fu, XiaoHong Sun, JiDe Wang et al.] // Chinese science bulletin. — 2011. — Vol. 56, № 4–5. — P. 355–366.

77. Micro and capillary LC-MS/MS a new dimension in phytohormone research / Prinsen E., W. Van Dongen, E. Esmans, H. Van Onckelen // J. chromatogr. — 1998. — Vol. 826. — P. 25–37.

78. Biosynthesis of auxin by the Gram-positive phytopathogen *Rhodococcus fascians* is controlled by compounds specific to infected plant tissues / [Oliver Vandeputte, Sevgi Oden, Adeline Mol Danny Vereecke et al.] // Appl. environ. microbiol. — 2005. — Vol. 71, № 3. — P. 1169–1177.

79. Weiler E. W. Radioimmunoassays for trans-zeatin and related cytokinins / Elmar W. Weiler // *Planta*. — 1980. — Vol. 149, № 2. — P. 155–162.

80. Weiler E. W. Radioimmunoassay for pmol-quantities of indole-3-acetic acid for use with highly stable [¹²⁵I]- and [³H]-IAA derivatives as radiotracers / Elmar W. Weiler // *Planta*. — 1981. — Vol. 153, № 4. — P. 319–325.

81. Badenoch-Jons J. Phytohormones, *Rhizobium* mutants, and nodulation in legumes. VII. Identification and ineffective pea root nodules using radioimmunoassay / Jane Badenoch-Jons, Charles W. Parker, D. S. Letham // *J. plant growth regul.* — 1987. — Vol. 6. — P. 97–111.

82. Quantitation of cytokinins in biological samples using antibodies against zeatin riboside / Jane Badenoch-Jons, David S. Letham, Charles W. Parker, Barry G. Rolfe // *Plant physiol.* — 1984. — Vol. 75. — P. 1117–1125.

83. Sousa C. M. Competitive-IgY-enzyme linked immunosorbent assay (CIgY-ELISA) to detect the cytokinins in *Gerbera jamesonii* plantlets / Cleiton Mateus Sousa, Ricardo Motta Miranda, Ronald Bastos Freire // *Brazilian archives of biology and technology*. — 2011. — Vol. 54, № 4. — P. 643–648.

84. Application of a modified version of Habeeb's trinitrophenylation method for the characterization of hapten-protein conjugates in a reversed micellar medium / Serge Pauillac, Jerome Naar, Barbara Mouratou, Jean-Luc Guesdon // *J. of immunological methods*. — 2002. — Vol. 263. — P. 75–83.

85. Rapid identification of cytokinins by an immunological method / Roy O. Morris, Paula E. Jameson, Michel Laloue, John W. Morris // *Plant physiol.* — 1991. — Vol. 95. — P. 1156–1161.

86. Ахиярова Г. Р. Накопление экзогенного зеатина в клетках корней растений пшеницы и его значение в регуляции транспорта цитокининов / Г. Р. Ахиярова, Т. Н. Архипова // *Цитология*. — 2010. — Т. 52, № 12. — С. 1024–1030.

87. Исследование цитокининов, продуцируемых ризосферными микроорганизмами / С. Ю. Веселов, Т. Н. Иванова, М. В. Симонян, А. И. Мелентьев // *Приклад. биохим. и микробиология*. — 1998. — Т. 34, № 2. — С. 175–179.

88. Архипова Т. Н. Влияние инокуляции цитокининпродуцирующими микроорганизмами на рост растений пшеницы при повышении уровня минерального питания / Т. Н. Архипова,

Н. Л. Анохина // Физиология растений. — 2009. — Т. 56, № 6. — С. 899–905.

89. Иммуноферментный анализ (24R)-брассиностероидов / [В. А. Хрипач, О. В. Свиридов, А. Г. Прядко и др.] // Биоорг. химия. — 2007. — Т. 33, № 3. — С. 371–378.

90. Иванова Е. П. Использование иммуноферментного метода анализа фитогормонов для характеристики начальных этапов роста проростков кукурузы, пшеницы и овса : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.04 / Е. П. Иванова ; Ин-т почвоведения и фотосинтеза РАН. — Пущино, 1994. — 23 с.

91. Иммуноферментное определение содержания индолилуксусной кислоты в семенах кукурузы с использованием меченых антител / [Г. Р. Кудоярова, С. Ю. Веселов, М. И. Еркеев и др.] // Физиология растений. — 1986. — Т. 33, Вып. 6. — С. 1221–1226.

92. Иммуноферментная тест-система для определения цитокининов / [Г. Р. Кудоярова, С. Ю. Веселов, Н. Н. Каравайко и др.] // Физиология растений — 1990. — Т. 37, Вып. 1. — С. 193–199.

93. Блинцов А. Н. Новый микрометод дифференциального количественного определения зеатина и зеатинрибозидов / А. Н. Блинцов, М. А. Гусаковская, И. П. Ермаков // Приклад. биохим. и микробиология. — 2001. — Т. 37, № 4. — С. 494–499.

94. Блинцов А. Н. О дифференциальном определении основных природных форм цитокининов иммуноферментным методом / А. Н. Блинцов, М. А. Гусаковская, И. П. Ермаков // Приклад. биохим. и микробиология. — 2000. — Т. 36, № 4. — С. 462–468.

95. Блинцов А. Н. Иммуноферментный метод определения зеатина и зеатинрибозидов / А. Н. Блинцов, М. А. Гусаковская // Вестн. Моск. ун-та, сер. 16. Биология. — 2002. — № 4. — С. 3–8.

96. Веселов С. Ю. Использование антител для количественного определения, очистки и локализации регуляторов роста растений / С. Ю. Веселов. — Уфа : Изд-е Башкирского ун-та, 1998. — 138 с.

97. Гусаковская М. А. Новый микрометод дифференциального определения основных природных форм индолил-3-уксусной кислоты / М. А. Гусаковская, А. Н. Блинцов // Биохимия. — 2007. — Т. 72, Вып. 3. — С. 416–423.

98. Гусаковская М. А. Дифференциальное определение природных форм индолил-3-уксусной кислоты / М. А. Гусаковская, А. Н. Блинцов, А. Ф. Лебедева // Вестн. Моск. ун-та, сер. 16. Биология. — 2007. — № 3. — С. 6–8.

ФИТОГОРМОНЫ — ПРОДУКТЫ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

С. Б. Димова

Институт сельскохозяйственной микробиологии и
агропромышленного производства НААН, г. Чернигов

Представлен обзор научных публикаций, касающихся современных представлений о продуцировании фитогормонов микроорганизмами. Рассмотрены преимущества и недостатки существующих аналитических методов определения содержания фитогормонов, которые могут быть применены в микробиологических исследованиях.

Ключевые слова: фитогормоны, ауксины, цитокинины, гиббереллины, синтез фитогормонов микроорганизмами, методы определения фитогормонов.

PHYTOHORMONES — MICROBIAL WASTE PRO- DUCTS. METHODS OF THEIR DETERMINATION

S. B. Dimova

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial
Manufacture, NAAS, Chernihiv

The paper depicts the publications review related to the modern ideas of plant hormones production by microorganisms. Advantages and disadvantages of the existing analytical methods of determination of phytohormones content that can be used in microbiological studies were analyzed.

*Key words: phytohormones, auxins, cytokinins, gibberel-
lins, microbial synthesis of phytohormones, methods of determi-
nation of phytohormones.*