

УДК 579.852.1:631.811.98

І.В. Драговоз, Н.О. Леонова, Д.А. Жукова, Л.В. Авдеєва

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України,
вул. Заболотного, 154, Київ МСП, 03680, Україна,
тел.: +38 (044) 526 24 09, e-mail: igordragovoz@ukr.net

ФІТОСТИМУЛЮВАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЕКЗОМЕТАБОЛІТІВ ШТАМА-АНТАГОНІСТА BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS IMB B-7404

Мета. Виявлення спектру екзометаболітів фітогормональної природи штама-антагоніста *Bacillus amyloliquefaciens* IMB B-7404, що визначають його фітостимулювальну активність. **Методи.** Вміст фітогормонів визначали методами спектроденситометричної тонкошарової хроматографії та газової хроматографії. **Результати.** Встановлено, що фітостимулювальна активність екзометаболітів *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404 зумовлена присутністю в їх складі трьох класів гормонів-стимуляторів (ауксинів, цитокінінів, гіберелінів). Показана здатність штаму синтезувати фітогормони-інгібітори: абсцизову кислоту і етилен. **Висновки.** Рівень і спектр фітогормонів, що синтезуються штамом *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404, відповідає особливостям його біології, а саме – сапробіонтному способу існування. Синтез індоліл-3-оцтової кислоти відіграє важливу фізіологічну роль у формуванні асоціативних взаємовідношень штаму з рослинами у ризосфері.

Ключові слова: *B. amyloliquefaciens*, екзометаболіти, фітогормони, фізіологічна роль, фітостимулювальна активність.

Відомо, що більшість природних ризосферних мікроорганізмів здатні до синтезу фітогормональних сполук для формування взаємовідношень з рослиною [14]. Створення ефективних біопрепаратів для рослинництва на основі живих культур мікроорганізмів передбачає вивчення асоціативних зв'язків між бактеріями та рослиною. Такий тип взаємодії опосередковується екзометаболітами мікроорганізмів з фітостимулювальною активністю. Аеробні спороутворювальні бактерії роду *Bacillus* є типовими представниками ґрунтової мікробіоти, серед яких є як ендofітні, так і вільноіснуючі види. Бацили вважаються перспективними агентами біоконтролю, оскільки здатні до високого антагонізму щодо багатьох грибних і бактеріальних фітопатогенів за рахунок синтезу широкого спектру вторинних метаболітів з вираженими бактерицидними та фунгіцидними

© І.В. Драговоз, Н.О. Леонова, Д.А. Жукова, Л.В. Авдеєва, 2013



властивостями [15]. Серед вторинних метаболітів бактерій роду *Bacillus* слід відзначити не лише антибактеріальні та антифунгальні речовини, а й сполуки, що характеризуються фітостимулювальною активністю. Це, в свою чергу, зумовлює доцільність використання штамів бацил у створенні високоефективних біопрепаратів широкого спектру дії для рослинництва. Раніше нами було показано можливість та доцільність використання штаму *B. amyloliquefaciens* УКМ В-7404 у складі композиції біопрепарату для зернових культур з метою пригнічення хвороб, збудниками яких є *Fusarium graminearum* і *Cochliobolus sativus* (неопубліковані дані).

В зв'язку з цим, метою нашої роботи було дослідити виявлення спектру екзометаболітів фітогормональної природи штама-антагоніста *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404, що визначають його фітостимулювальну активність.

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження був штам *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 з колекції відділу антибіотиків Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Культивування проводили в періодичних умовах в колбах ємністю 750 мл при 200 об/хв та 37 °С впродовж 18–24 год на рідкому поживному синтетичному середовищі [1]. Середовище засівали 18-годинною культурою бацил в експоненційній фазі росту. Рідку культуру штаму *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 центрифугували 30 хв при 15000g і температурі 4 °С. Культуральну рідину використовували для аналізу на загальну фітостимулювальну активність екзометаболітів, для специфічного біотестування та для якісного і кількісного визначення фітогормонів фізико-хімічними методами.

Для рулонного методу використовували насіння озимої пшениці сорту Альбатрос одеський. З цією метою на поліетиленові смуги розміром 35x15 см розкладали по 33 насінин, відступаючи від верхнього краю 5 см. Зверху на насіння накладали смужку зволоженого фільтрувального паперу шириною 10–12 см. Скручували в рулон і ставили в склянки з відстояною водопровідною водою та двома розведеннями культуральної рідини *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 (1:65 та 1:100), підібраними експериментальним шляхом. Морфометричні виміри проростків проводили на 7-му добу. Результати враховували за наростанням надземної та кореневої маси та виражали у відсотках відносно контролю. Повторність дослідів трикратна.

Для дослідження індукції ризогенезу використовували двотижневі живці квасолі сорту Лопата. Варіантами досліду були експериментально підібрані розведення культуральної рідини штаму *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 1:50, 1:75, 1:100. За контроль слугували відстояна водопровідна вода та препарат-еталон — індоліл-3-оцтова кислота (ІОК) у концентрації 10^{-5} М [5]. Основні показники фізіологічної активності дослі-



джуваних розчинів: кількість коренів, маса коренів та довжина ділянки, що утворювала корені.

Позаклітинні фітогормони виділяли з культуральної рідини штаму *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 методом перерозподілу фітогормонів у двох фазах розчинників, що не змішуються між собою [2]. Отримані екстракти (випарені та перерозчинені в етанолі) використовували для специфічного біотестування (ауксинова, цитокинінова та гіберелова активності) і подальшого хроматографічного аналізу фітогормонів.

Для визначення ауксинової активності застосовували відрізки колеоптилів озимої пшениці сорту Альбатрос одеський. Варіантами досліду були розведення екстрактів культуральної рідини *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7100 1:200, 1:300 та 1:400. За контроль слугували препарат-еталон — ІОК (10^{-5} М) та відстояна водопровідна вода.

Визначення цитокинінової активності проводили на етиольованих семи-добових сім'ядольних листках огірка сорту Фенікс. Використовували такі розведення етанольного екстракту — 1:200, 1:300 1:400, 1:500 та 1:600. Контролі — препарат-еталон бензиламінопурин (БАП) у концентраціях 10^{-4} М та 10^{-5} М та відстояна водопровідна вода.

Для визначення гіберелової активності використовували гіпокотилі огірка сорту Фенікс за методикою Браєна і Леммінга в модифікації Агністикової [3]. Досліджували розведення гіберелового етанольного екстракту культуральної рідини, а саме 1:200, 1:300 1:400, 1:500 та 1:600. Контролі — препарат-еталон — гіберелова кислота (ГК₃) в концентрації 10^{-5} М та відстояна водопровідна вода.

Отримані етанольні екстракти культуральної рідини *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 використовували для проведення якісного і кількісного аналізу фітогормональних сполук методом тонкошарової хроматографії [4]. Кількісне визначення ауксинів, цитокинінів та абсцизової кислоти (АБК) проводили за допомогою сканувального спектроденситометра «Сорбфіл» (Росія). Кількість синтезованих позаклітинних фітогормонів розраховували у мікрограмах на 1 г абсолютно сухої біомаси (АСБ) продуцента.

Синтез етилену визначали методом газової хроматографії [10]. Газову суміш аналізували на газовому хроматографі «Хром-5» (Чехія) з полум'яно-іонізаційним детектором (тверда фаза — β - β' оксидо-пропіонітрил). Кількість етилену розраховували за калібрувальним графіком, побудованим згідно розведень етилену і виражали у молях за годину на 1 г АСБ продуцента. Експерименти проводили у 5-ти кратній аналітичній повторності.

Для оцінки достовірності експериментальних даних, представлених в роботі, використовували параметричні критерії нормального розподілу, розраховуючи середнє арифметичне ($X_{\text{ср.}}$) і середнє квадратичне відхилення ($S_{\text{ср.}}$) за рівня значущості $<0,05$. Аналіз проводили із застосуванням пакета комп'ютерних програм *STATISTICA 6.0* і *Microsoft Excel*.



Результати і обговорення

З метою визначення природи ростової активності штаму *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404 досліджено загальний рівень активності його екзометаболітів. При цьому за допомогою рулонного методу у всіх варіантах досліду було виявлено стимуляцію наростання біомаси як коренів, так і пагонів озимої пшениці сорту Альбатрос одеський (табл. 1).

Таблиця 1

Загальна рістстимулювальна активність екзометаболітів
B. amyloliquefaciens IMB B-7404

Table 1

General growth stimulated activity of *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404

Варіант досліду	Середня маса коренів рослини, г	% до контролю	Середня маса пагона, г	% до контролю	Середня маса проростка, г	% до контролю
Контроль (вода)	0,037±0,006	100	0,076±0,01	100	0,113±0,02	100
Культуральна рідина, 1:65	0,060±0,01	162	0,092±0,01	121	0,152±0,01	135
Культуральна рідина, 1:100	0,052±0,01	140	0,100±0,02	131	0,152±0,02	135

Найбільший фітостимулювальний ефект відмічено для розведення культуральної рідини 1:65. Маса коренів збільшувалася на 62% порівняно з контролем, а маса паростків — на 21%. Корені пшениці були чутливішими до дії екзометаболітів штаму, що є цілком закономірним. Проте загальний приріст біомаси паростків не показав залежності від концентрації культуральної рідини, так як маса паростків пшениці збільшувалася на 34,5% порівняно з контролем в обох варіантах розведень.

Приріст сирової біомаси коренів і паростків свідчить про наявність фітостимулювальних сполук у культуральній рідині. Відомо, що існує 3 класи фітогормонів-стимуляторів, але використання рулонного методу не дає можливості визначити природу фітогормональної активності (ауксинову, цитокінінову, гіберелову). Тому, подальше дослідження фітостимулювальної активності екзометаболітів штаму *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404 проводилося за допомогою специфічних біотестів.



Отримані результати показали стимулювальний вплив екзометаболітів штаму *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 на ризогенез квасолі сорту Лопата (рис. 1). Препарат-еталон (ІОК, 10^{-5} М) підвищував як середню кількість коренів – на 95%, так і на 41,7% приріст біомаси коренів відносно контролю. Аналогічна тенденція стимуляції ризогенезу спостерігалася при дослідженні розведення культуральної рідини 1:50 – відбувалося збільшення кількості коренів і приріст їх біомаси на 13% і 133%, відповідно, тоді як застосування більших розведень (1:75 та 1:100) призводило до зменшення кількості утворених коренів, проте їх біомаса зростала порівняно з контролем на 37% (1:100).

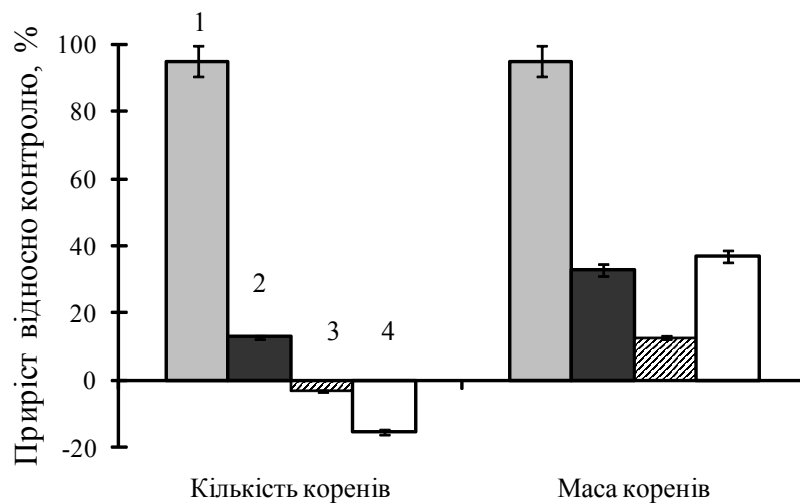


Рис. 1. Вплив культуральної рідини *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 на ризогенез живців квасолі сорту Лопата

1 – ІОК у концентрації 10^{-5} М; 2 – розведення 1:50; 3 – розведення 1:75; 4 – розведення 1:100

Fig. 1. Influence of cultural liquid *B. amyloliquefaciens* IMV B-7404 rhizogenesis on bean cultivar "Lopata"

1 – IAA, 10^{-5} M; 2 – 1:50 dilution; 3 – 1:75 dilution; 4 – 1:100 dilution

Отримані результати свідчать про наявність фітостимулювальних речовин ауксинової природи серед екзометаболітів штаму *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404. Це дозволяє зробити припущення щодо наявності інших регуляторів негормональної природи у культуральній рідині досліджуваного штаму, зокрема, вітаміну К, синтез якого є характерним для сапробіонтів роду *Bacillus* [13].

Специфічну біологічну активність екзометаболітів штаму *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404 (ауксинової, цитокінінової та гіберелової) визначали за допомогою біотестування, що дозволяє оцінити присутність певних класів фітогормональних сполук за їх фізіологічною

дією. Біотестування проводили з використанням відповідних етанольних екстрактів, отриманих з культуральної рідини досліджуваного штаму.

При вивченні ауксинової активності було показано приріст довжини колеоптилів озимої пшениці сорту Альбатрос одеський з вираженою концентраційною залежністю (рис. 2), що свідчить про наявність у культуральній рідині штаму *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404 порівняно високої кількості гормональних сполук ауксинової природи. Так, зафіксовано приріст колеоптилів на 9–15,8% залежно від розведення етанольного екстракту, тоді як препарат-еталон (ІОК, 10^{-5} М) стимулював приріст на 32,4% щодо контролю (вода).

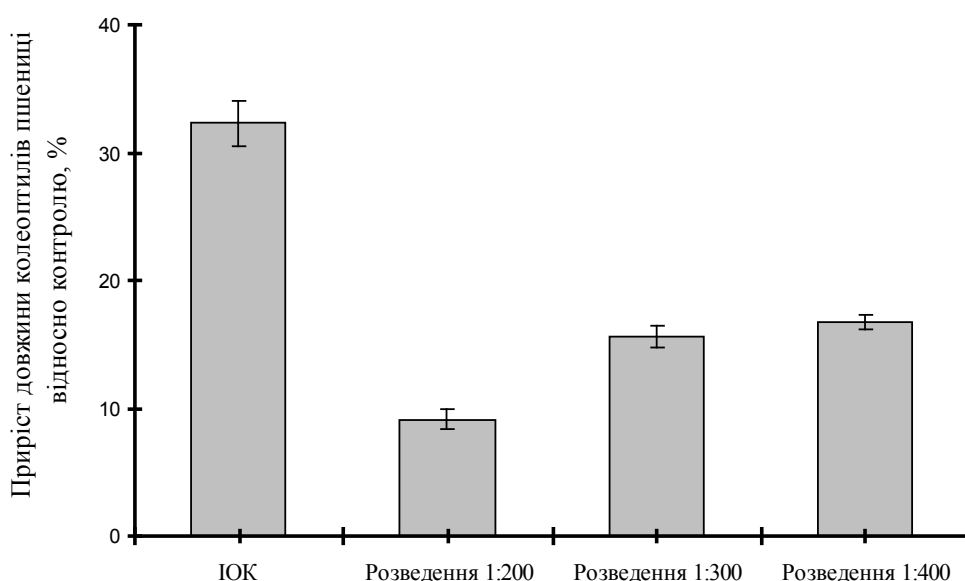


Рис. 2. Добовий приріст довжини відрізків колеоптилів озимої пшениці сорту Альбатрос одеський за дії екстрактів культуральної рідини *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404

Fig. 2. Daily growth of winter wheat coleoptels (cultivar Albatros odesskiy) under the extract influence of cultural liquid *B. amyloliquefaciens* IMV B-7404

Дослідження специфічної цитокінінової активності показало, що екзометаболіти не проявляли вираженого фітостимулювального ефекту, опосередкованого наявністю цитокінінів. У гібереловому тесті встановлено аналогічну до ауксинової активності концентраційну залежність розведень екстракту культуральної рідини.

Таким чином, методами специфічного біотестування показано присутність серед екзометаболітів штаму *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404 усіх класів гормонів-стимуляторів. Отримані результати підтверджують дані літератури щодо синтезу відомих класів гормонів-стимуляторів ґрунтовими мікроорганізмами, здатними до асоціативних зв'язків з рослинами [8].

Наступним етапом роботи було проведення фізико-хімічного аналізу фітогормональних сполук. Встановлено, що штаму *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404 притаманний середній рівень синтезу ауксинів, зокрема, фізіологічно-активної форми – ІОК – 122,51 мкг/г АСБ, тоді як рівень синтезу цитокінінів виявився досить низьким – 11,05 мкг/г АСБ (табл. 2). Окрім гормонів-стимуляторів, серед екзометаболітів штаму були виявлені гормональні сполуки інгібувальної дії: АБК (2,43 мкг/г АСБ) та етилен (10,4 нмоль/год • г АСБ).

Таблиця 2

Вміст фітогормонів у культуральній рідині *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404

Table 2

Phytohormones content in cultural liquid *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404

Фітогормони		мкг/г абсолютно сухої біомаси	
Ауксини	Індоліл-3-карбоксальдегід	10,28	Σ 132,79
	Індоліл-3-оцтова кислота	122,51	
Цитокініни	Зеатин	9,22	Σ 11,05
	Ізопентеніл-аденін	1,83	
Абсцизова кислота		2,43	
Етилен, нмоль/год • г АСБ		10,4	

Відомо, що синтез фітогормональних речовин розглядають як важливий чинник взаємодії PGPR-бактерій (plant growth promoting rhizobacteria) з рослиною, що позитивно впливає на її ріст і розвиток [11]. Зокрема, встановлено, що синтез фізіологічно активних форм ауксинів притаманний більшості ґрунтових мікроорганізмів, що мають асоціативні зв'язки з рослиною. Молекули ауксинів виступають в ролі сигнальних молекул під час мікробно-рослинної взаємодії [7]. Саме рівень синтезу ауксинів сапробіонтами використовують як селективний маркер для PGPR-бактерій [9]. З іншого боку показано, що навіть низький рівень синтезу ІОК асоціативними бактеріями здатен стимулювати системну стійкість рослини за рахунок прискорення проходження рослинами чутливих до інфекції фаз розвитку [8].

Штам *B. amyloliquefaciens* IMB B-7404 є вільноіснуючим ризосферним ґрунтовим мікроорганізмом і низький рівень синтезу цитокінінів відповідає способу існування даного штаму, оскільки відомо, що саме синтез цитокінінів пов'язаний з ендofітним або симбіотичним способом існування, а їх рівень прямо корелює з ефективністю симбіозу між бактеріями і рослиною [6, 14].



Окрім гормонів-стимуляторів для даного штаму є характерним синтез двох класів фітогормонів з інгібувальною дією — АБК та етилену. Наявність серед екзометаболітів АБК можна розглядати як додатковий фактор формування асоціативних зв'язків штаму з рослиною, оскільки АБК ризосферних мікроорганізмів відіграє роль медіатора мікробно-рослинної взаємодії [6]. З іншого боку, екзогенна АБК діє на рослину як хімічний індуктор резистентності до збудників хвороб, зокрема до *Phytophthora* та *Magnaporthe grisea*, а також виступає в ролі гормонального регулятора стійкості до абіотичних стресів, зокрема, до холоду та посухи [12]. Вважається, що етилен також опосередковує формування асоціативних зв'язків між рослиною та мікроорганізмами [6]. Так, етилен відомий як фітогормон-інгібітор, проте за малих концентрацій він здатен і до стимуляції росту рослини. Окрім того, етилен розглядається як гормон стресу і його потрапляння в рослину при взаємодії з асоціативними бактеріями, ймовірно, може впливати на підвищення стійкості рослини до абіотичних чинників [8].

Таким чином, кількісно та якісно визначено спектр екзометаболітів штаму *B. amyloliquefaciens* ІМВ В-7404, що зумовлюють його фітостимулювальну активність. Показано, що штам здатен до синтезу трьох класів гормонів-стимуляторів (ауксинів, цитокінінів, гіберелінів) та двох класів фітогормонів з інгібувальною дією, а саме АБК та етилену. Останні, ймовірно, можуть відігравати роль медіаторних молекул при взаємодії мікроорганізмів з рослиною та додаткових чинників стійкості до абіотичних чинників довкілля. Серед гормонів-стимуляторів відзначено відносно високий рівень синтезу ауксинів, зокрема, ІОК, що свідчить про її важливу фізіологічну роль у формуванні асоціативних взаємовідношень штаму з рослиною в ризосфері.

И.В. Драговоз, Н.О. Леонова, Д.А. Жукова, Л.В. Авдеева

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Заболотного, 154, Киев, 03680, Украина,
тел.: +38 (044) 526 24 09, e-mail: igordragovoz@ukr.net

**ФИТОСТИМУЛИРУЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ
ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ ШТАМА-АНТАГОНИСТА
BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS ИМВ В-7404**

Реферат

Цель. Выявление спектра экзометаболитов фитогормональной природы штамма-антагониста *Bacillus amyloliquefaciens* ИМВ В-7404, определяющих его фитостимулирующую активность. **Методы.** Содержание фитогормонов определяли методами спектроденситометрической



тонкослойной хроматографии и газовой хроматографии. **Результаты.** Установлено, что фитостимулирующая активность экзометаболитов *B. amyloliquefaciens* ИМВ В- 7404 обусловлена присутствием в их составе трех классов гормонов-стимуляторов (ауксинов, цитокининов, гиббереллинов). Показана способность штамма синтезировать фитогормоны-ингибиторы: абсцизовую кислоту и этилен. **Выводы.** Уровень и спектр фитогормонов, синтезируемых штаммом *B. amyloliquefaciens* ИМВ В-7404, соответствует особенностям его биологии, а именно — сапробионтному способу существования. Синтез индолил-3-уксусной кислоты играет важную физиологическую роль в формировании ассоциативных взаимоотношений штамма с растениями в ризосфере.

Ключевые слова: *B. amyloliquefaciens*, экзометаболиты, фитогормоны, физиологическая роль, фитостимулирующая активность

I.V. Dragovoz, N.O. Leonova, D.A. Zhukova, L.V. Avdeeva

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NASU,
154, Zabolotny St., Kyiv, Ukraine, MSP 03680, e-mail: igordragovoz@ukr.net

EXOMETABOLITES PHYTOSTIMULATION ACTIVITY OF ANTAGONISTIC ACTIVE STRAIN *BACILLUS* *AMYLOLIQUEFACIENS* IMV B-7404

Summary

Aim. The research of phytohormonal natural exometabolites by strain-antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* IMV B-7404, which determines its phytostimulating activity. **Methods.** General growth activity, induction of rhizogenesis, specific biological testing, spectrum densitometric thin layer chromatography, high performance liquid chromatography, gas chromatography. **Results.** Exometabolites phytostimulating activity of *B. amyloliquefaciens* IMV B-7404 is occurred due presence in its content of three classes of plant hormones-stimulators: auxins, cytokinins and gibberellins. The ability of the strain to synthesize phytohormones-inhibitors such as abscisic acid and ethylene has been shown. **Conclusions.** The level and range of phytohormones synthesized by strain *B. amyloliquefaciens* IMV B-7404 support the peculiarities of it's biology, namely saprobiontic mode of existence. Synthesis of indolyl-3-acetic acid plays an important physiological role in the formation of associative relationships between strains in the plants rhizosphere.

Key words: *B. amyloliquefaciens*, exometabolites, phytohormones, physiological role, phytostimulation activity.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Авдеева Л.В., Осадчая А.И., Хархота М.А. Композиционное соотношение пробиотических штаммов *Bacillus subtilis* и пребиотиков для синбиотического препарата // Мікробіотехн. і біотехн. — 2012. — №4. — С. 18–24.
2. Методические рекомендации по определению фитогормонов. — Киев: Ин-т ботаники АН УССР. — 1988. — 78 с.
3. Муромцев Г.С., Агнестикова В.Н. Гормоны растений гиббереллины. — М.: Наука, — 1973. — 270 с.
4. Савинский С.В., Драгавоз И.В., Педченко В.К. Определение содержания индолил-3-уксусной и абсцизовой кислот в одной растительной пробе методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Физиол. и биох. культ. раст. — 1991. — т. 23, №6. — С. 611–619.
5. Турецкая Р.Х. Метод определения активности веществ, стимулирующих корнеобразование // Методы определения регуляторов роста и гербицидов. — М.: Наука. — 1966. — С. 15–19.
6. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А., Непрусов А.И. Гормоны и гормоноподобные соединения микроорганизмов // Приклад. биохим. и микробиол. — 2006. — т. 42, № 3. — С. 261–268.
7. Ambreen A., Shahida H. Auxin-producing *Bacillus* sp.: Auxin quantification and effect on the growth of *Solanum tuberosum* // Pure Appl. Chem. — 2010. — 82, № 1. — P. 313–319.
8. Berg G. Plant–microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2009. — 84. — P. 11–18.
9. Khalid A., Arshad M., Zahir Z.A. Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat // J. Appl. Microbiol. — 2004. — 96. — P. 473–480.
10. Kurchii B.A. Acetylcholine and ethylene: do they share similar receptors and biological action // Ukr. Bioorganica Acta. — 2009.— N 1. — P. 36–44.
11. Maheshwari D.K. Bacteria in Agrobiolgy: Plant Probiotics // Springer-Verlag Berlin Heidelberg. — 2012. — P. 169–184.
12. Mauch-Mani B., Mauch F. The role of abscisic acid in plant–pathogen interactions // Cur. Opin. Plant Biol. — 2005. — № 8. — P. 409–414.
13. Sato T., Yamada Y., Ohtani Yu., Mitsui N., Murasawa H., Araki Sh. Production of menaquinone (Vitamin K₂) by *Bacillus subtilis* // J. Biosci. Bioengin. — 2001. — 91, № 1. — P. 16–20.
14. Spena A., Estruch J.J., Schell J. On microbes and plants: New insights in phytohormonal research// Cur. Opin. Biotech. — V. 3. — 1992. — P. 159–163.
15. Whipps J.M. Microbial interaction and biocontrol in the rhizosphere // J. Experim. Bot. — 2001. — V. 52. — P. 487–511.

Стаття надійшла до редакції 07.08.2013 р.

