

УДК 631.8:577.175.1

Ю.Ю. Петруша, Л.О. Омелянчик

**ПОШУК РОСТОСТИМУЛЯТОРІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ КУЛЬТУР
СЕРЕД ПІРИДИНЗАМІЩЕНИХ МЕРКАПТОКИСЛОТ**

Запорізький національний університет

e-mail: Yulia.ZNU@mail.ru

Робота присвячена дослідженню ростостимулюючої активності нових синтезованих піридинзаміщених L-цистеїну та інших меркаптокислот. Вивчали вплив синтезованих сполук на поділ та ріст клітин паростків роду *Cucumis* sp. (сорт «Конкурент»). Отримані результати підтверджують перспективність пошуку в цьому класі сполук нових ефективних та екологічно безпечних ростостимуляторів сільськогосподарських культур. На основі виконаних досліджень запропоновано як ростостимулюючий засіб дигідрохлорид S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну, що є малотоксичною сполукою та має виражену ростостимулюючу активність, і здатний збільшувати довжину головного кореня та кількість бічних коренів паростків рослин родини Гарбузових, що сприяє більш швидкому розвитку гіпокотилу і листя, а це у свою чергу збільшує врожайність та життєздатність рослин.

Ключові слова: ростостимулююча активність, L-цистеїн, піридинзаміщені меркаптокислоти.

Ю.Ю. Петруша, Л.А. Омелянчик

**ПОИСК РОСТОСТИМУЛЯТОРОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР
СРЕДИ ПИРИДИНЗАМЕЩЕННЫХ МЕРКАПТОКИСЛОТ**

Запорожский национальный университет

e-mail: Yulia.ZNU@mail.ru

Работа посвящена исследованию ростостимулирующей активности новых синтезированных пиридинзамещенных L-цистеина и других меркаптокислот. Изучали влияние синтезированных соединений на деление и рост клеток проростков рода *Cucumis* (сорт «Конкурент»). Полученные результаты подтверждают перспективность поиска в этом классе веществ новых эффективных и экологически безопасных ростостимуляторов сельскохозяйственных культур. На основании выполненных исследований как ростостимулирующее средство предложен дигидрохлорид S-(пиридин-4-ил)-L-цистеина, который является малотоксичным соединением и имеет выраженную ростостимулирующую активность. Данный препарат способен увеличивать длину главного корня и количество боковых корней проростков растений семейства Тыквенных, что способствует более быстрому развитию гипокотилу и листьев и увеличивает урожайность и жизнеспособность растений.

Ключевые слова: ростостимулирующая активность, L-цистеин, пиридинзамещенные меркаптокислоты.



Yu.Yu. Petrusha, L.A. Omelyanchik

**SELECTION OF GROWTH STIMULATORS AMONG THE PYRIDINE
SUBSTITUTES OF MERCAPTO ACIDS***Zaporizhzhya National University**e-mail: Yulia.ZNU@mail.ru*

We tracked the grow-stimulating activity of new synthesized pyridinesubstitutes of L-cysteine and others mercaptoacids. We also studied the influence of the synthesized connections on cells growth and fission of *Cucumis sp.* sprouts (cultivar "Competitor"). The obtained results confirm the perspective selection of new effective and ecologically safe grow-stimulators of agricultural culture from these chemical substances. We suggested that dihydrochloride S-(pyridine-4-il)-L-cysteine could be considered as grow-stimulated substance which has weak toxic activity and intensive grow-stimulating activity. This product is capable to increase the length of the main root and quantity of lateral roots of sprouts of gourd family that promotes more faster development of gypocotile and leaves and increases the productivity and viability of the plants.

Key words: grow-stimulating activity, L-cysteine, pyridine substitutes, mercaptoacids.

ВСТУП

Одним із важливих завдань агропромислового комплексу України є стабілізація виробництва високоякісної продукції рослинництва. У вирішенні цієї проблеми важливого значення набуває удосконалення агротехнологічного процесу вирощування основних сільськогосподарських культур. Тому особливої актуальності набуває пошук альтернативних засобів впливу на формування господарсько-цінної частини урожаю сільськогосподарських культур.

У сучасних умовах перспективним є впровадження біологічно активних речовин, у тому числі фітогормонів – регуляторів (стимуляторів) росту і розвитку рослин (РРР). Їх застосування в землеробстві, рослинництві та лісівництві дає результати, яких не можна досягнути іншими методами. Використання цих препаратів дозволяє повніше реалізувати генетичні можливості, підвищити стійкість рослин проти стресових факторів біотичної та абіотичної природи і в кінцевому результаті збільшити урожай і поліпшити його якість (Бабаянц, 2010; Калінін, 1989).

Фітогормони природного походження через їх високу вартість, за деякими винятками, недоцільно застосовувати у виробничих умовах. Зокрема, відомий стимулятор утворення коріння рослин – природний фітогормон гетероауксин (індоліл-3-оцтова кислота) (Шевелуха, 1990) має невисоку фіторегулюючу активність, а у зв'язку з його недостатньою розчинністю у воді перед використанням необхідно здійснювати попереднє розчинення (підрозчинення) у спирті. Через те, що гетероауксин є фітогормоном, навіть незначне перевищення рекомендованої концентрації може призвести до надмірного

прискорення росту рослини за рахунок внутрішніх резервів, і при нестачі основних речовин живлення можливі її виснаження та загибель.

У зв'язку із посиленням вимог до агрохімікатів, в Україні проводяться дослідження фізіолого-біохімічних показників щодо створення РРР нового покоління як синтетичних, так і природних з метою впровадження в сільськогосподарське виробництво. Критеріями оцінювання РРР є висока ефективність дії, екологічна безпечність, відсутність фітотоксичності та технологічність застосування (Шевелуха, 1990). Досягнення позитивного ефекту від застосування росторегулюючих речовин можливе лише за оптимальної концентрації робочого розчину препарату, оскільки більшості біологічно активних речовин притаманна дозозалежна та різноспрямована дія.

Перспективними для використання у сільському господарстві є синтетичні РРР із групи похідних азотистих гетероциклів, зокрема, піридину. На сьогодні синтезовано понад 125 сполук похідних піридину (Жмілько, 2007). На основі піридину створено і багато відомих лікарських засобів, він входить до структури багатьох біологічно активних сполук, наприклад, окислювально-відновних ферментів і вітамінів (наприклад, піридоксину та нікотинової кислоти, які регулюють ріст і живлення рослин) (Машковський, 2001). Гетероциклічна система піридину дає певні можливості для модифікації її молекули з метою одержання нових біологічно активних сполук.

Як відомо, амінокислота L-цистеїн входить до складу практично всіх природних білків, бере участь у багатьох важливих біохімічних процесах, а також має високі антиоксидантні властивості (Машковський, 2001). Інтерес викликає дослідження нових сполук, що поєднують в собі ці біологічно активні структури. Така модифікація здатна призводити до підсилення біологічної дії або до появи нових видів біологічної активності, а пошук нових РРР в цьому ряду є актуальним, має практичну і теоретичну значимість.

Тому метою нашої роботи було дослідження ростостимулюючої активності нових синтезованих піридинзаміщених L-цистеїну та інших меркаптокислот.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження впливу синтезованих сполук проводили на проростках огірка роду *Cucumis sp.* (сорт «Конкурент»). Нові піридинзаміщені L-цистеїну та інших меркаптокислот було синтезовано у лабораторії біотехнології фізіологічно активних речовин Запорізького національного університету. Використовували розчини гідрохлоридів та натрієвих і динатрієвих солей вищезазначених сполук завдяки їх кращій розчинності. Структуру синтезованих сполук підтверджено даними ПМР-, ІЧ-, хромато-мас-спектроскопії та елементного аналізу, чистоту – методом тонкошарової хроматографії. Спектри ПМР знято на приладі «Bruker AC-300» (300 МГц) у $\text{DMSO-d}_6 + \text{CCl}_4$ (1:1), внутрішній стандарт – TMC, величини хімічних зміщень (δ) вимірювали з точністю до 0,01



м.ч. Елементний аналіз сполук проведено за допомогою елементного аналізатора ELEMENTAR vario EL cube. ІЧ-спектри записані на спектрометрі Bruker ALPHA FT-IR на приставці ATR. Хромато-мас-спектри знято на приладі «AGILENT 1100».

Тонкошарову хроматографію проведено на платівках фірми «Silufol UV-254» словацького виробництва в різних системах розчинників. Проявлення хроматограм здійснено за допомогою УФ-променів. Вивчення впливу синтезованих сполук на поділ та ріст клітин проводили на кореновому тесті на паростках р. *Cuscutis sp.* (Іванов, 1974). Досліджували такі ростові параметри як довжину кореня (ДГ), довжину зони росту бічних коренів (ДЗРБК), кількість бічних коренів (КБК) через 3 доби пророщування рослини. Використовували дигідрохлорид S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну у концентрації 1, 2, 20, 100 та 500 мкг/мл. Цитотоксичність сполук оцінювали за зменшенням зазначених параметрів в експерименті порівняно з контролем (вода).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

З метою пошуку PPP серед піридинзаміщених L-цистеїну та інших меркаптокислот взаємодією 4-хлорпіридину з меркаптокислотами (L-цистеїн, 3-меркаптопропіонова, 2-меркаптобурштинова, тіомолочна, тіогліколева кислоти) за відомими методиками отримано більше 7 нових сполук (Петруша, 2012). Встановлено, що майже всі досліджені сполуки за концентрації 500 мкг/мл мають цитотоксичну дію. Найбільш цитотоксичною речовиною серед перевірених виявився гідрохлорид S-(піридин-4-іл)оцтової кислоти. В цьому класі сполук спостерігаються тенденції до зміни цитотоксичності залежно від хімічної структури. Так, етерифікація кислот спиртами й утворення натрієвої солі призводить до збільшення цитотоксичності порівняно з вихідними кислотами, а модифікація карбоксильних груп з утворенням динатрієвих солей – значно її зменшує. Утворення сукциноїльних похідних і заміна залишку L-цистеїну на залишок бурштинової кислоти призводить до збільшення цитотоксичності.

За результатами дослідження впливу S-піридинзаміщених меркаптокислот та їх похідних на поділ та ріст рослинних клітин нами було відібрано для застосування дигідрохлорид S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну (рис. 1) як ефективний стимулятор пророщування насіння, здатний збільшити довжину головного кореня та кількість бічних коренів розсади огірків, що сприяє більш швидкому розвитку гіпокотилля і листя, а це у свою чергу збільшує врожайність та життєздатність рослин (Патент 67852 UA).

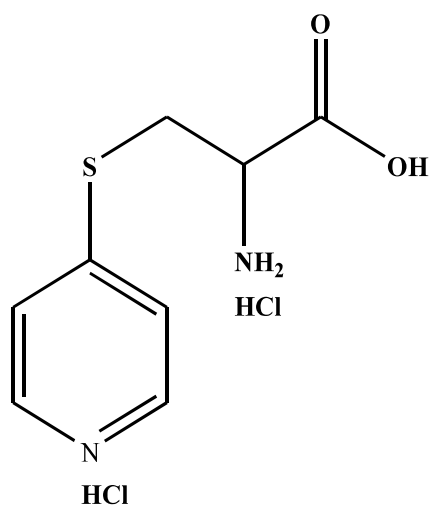


Рис. 1. Структурна формула дигідрохлориду S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну

Дигідрохлорид S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну являє собою кристалічну речовину білого кольору з температурою плавлення 148–150 °С, розчинну у воді. Піридинзаміщеним меркаптокислотам притаманна низька токсичність не тільки для рослин, але й для тварин. Так, летальна доза при внутрішньочеревному введенні щурам досліджуваної сполуки становить 832 мг/кг, тобто її можна віднести до IV класу токсичності, а саме до малотоксичних речовин.

Отримані дані (табл. 1) свідчать, що запропонована сполука проявила значну ростостимулюючу активність. Це було підтверджено вимірюваннями довжини головного кореня, довжини зони росту бічних коренів та кількості бічних коренів через 3 доби пророщування насіння огірка (*Cucumis sp.*). Ростостимулююча активність піридинзаміщених меркаптокислот може пояснюватися тим, що молекула піридину є дієвою основою широкого кола біоактивних сполук з різним біологічним ефектом. Зокрема, факт подовження коренів рослини огірка (*Cucumis sp.*) в умовах обробки вищезазначеними синтетичними сполуками може бути наслідком більшого розширення клітин, яке, як відомо, сягає максимуму в зоні кореневих волосків.

В якості контрольної речовини для виявлення ростостимулюючої здатності дигідрохлорид S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну було використано препарат «Епін» (епібрассінолід), вплив якого виявляється широким спектром стимуляторної та захисної дії. Установлено, що за впливом на довжину головного кореня та довжину зони росту бічних коренів, запропонована нами сполука діє сильніше контрольного препарату (табл. 1).

Таблиця 1. Показники стимуляції росту огірків під впливом дигідрохлориду S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну



Параметри	Концентрація, мкг/мл					Епін, 25 мг/мл
	1	5	20	100	500	
ДГ, % стимуляції	-1,6	-1,7	-1,8	-4,7	-5,9	2,08
ДГК, % стимуляції	27,45*	13,7	16,0	27,64*	-24,1	23,49
ДЗРБК, % стимуляції	43,7*	19,3	14,77	38,8*	0,6	37,28
КБК, % стимуляції	14,3	16,52	6,28	20,6	-17,07	22,9

Примітка: * – $P < 0,05$ відносно контролю. Контроль (дистильована вода) прийнято за нуль.

На рис. 2 наведено дані щодо залежності інтенсивності росту та поділу клітин рослин огірка роду *Cucumis sp.* сорту «Конкурент» від концентрації стимулятора. Останнє може пояснюватися високою біологічною активністю регуляторів в рослинному організмі завдяки активації основних життєвих процесів.

Стимуляція росту паростків зменшується зі збільшенням концентрації від 1 мкг/мл до 5 мкг/мл, потім майже не змінюється між 5 мкг/мл та 20 мкг/мл (плато на графіку), а потім знову посилюється між 20 мкг/мл та 100 мкг/мл. Плато на кривих не можна пояснити закономірностями проникнення речовини у клітини паростків. Якби ступінь стимуляції росту залежав би просто від концентрації сполуки у клітинах, то він зростав би зі збільшенням концентрації розчину, в якому пророщували насіння, що спостерігається по обидва боки від плато. Отже посилення ростостимулюючої дії сполуки визначається не тільки накопиченням її у клітинах.

Можна припустити, що досліджувана сполука стимулює процеси, які визначають швидкість росту паростків не в даний час, а через деякий час після початку впливу. Ці процеси відрізняються за чутливістю до досліджуваної речовини. Ріст клітин, що розтягуються, та від яких залежить приріст в перший час після перенесення в розчин, мало чутливий. А процеси, що проходять у меристемі (поділ клітин і підготування їх до розтягування), навпаки, дуже чутливі, але їх стимуляція позначається на рості паростків після деякого часу.

Різниця між чутливістю цих процесів дозволяє припустити, що вони стимулюються за рахунок різних механізмів дії досліджуваної речовини. Перший насичується вже при 5 мкг/мл і при подальшому збільшенні концентрації до 20 мкг/мл дія суттєво не посилюється, поки не починає проявлятися другий механізм. У результаті і утворюється плато на графіках.

Також нами запропоновано спосіб стимуляції пророщування насіння огірків з використанням водного розчину дигідрохлориду S-(піридин-4-іл)-L-

цистеїну з концентрацією діючої речовини $1 \cdot 10^{-6}$ г/мл (Патент 67848 UA). Спосіб не потребує застосування спирту, речовина добре розчиня у воді. Застосовуються дуже низькі концентрації ($1 \cdot 10^{-6}$ г/мл), що суттєво не впливає на екологічний стан довкілля.

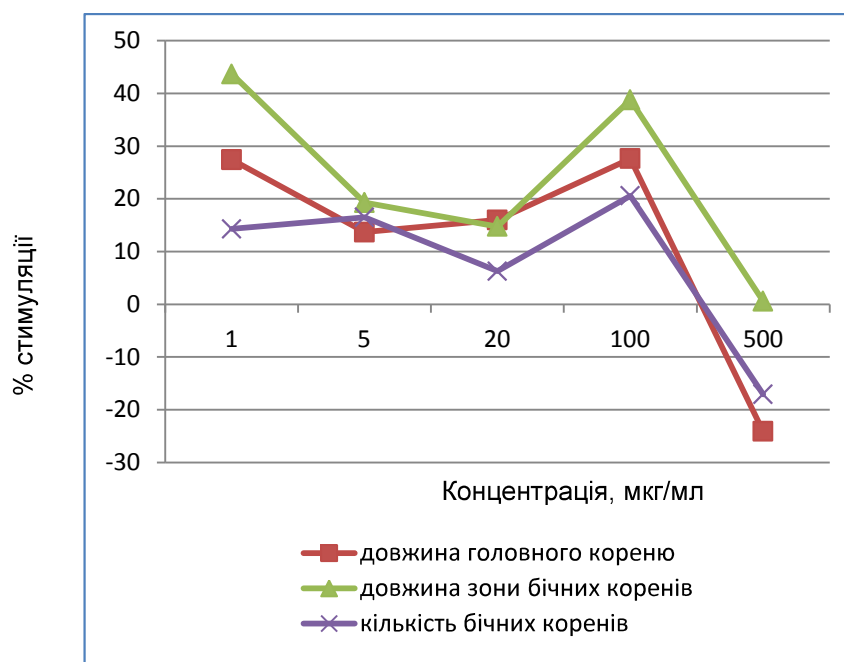


Рис. 2. Вплив дигідрохлориду S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну на поділ та ріст клітин паростків *Cucumis sp.* Показники контролю (вода) взято за нуль.

Спосіб здійснюють таким чином: готують водний розчин діючої речовини шляхом розчинення наважки у воді кімнатної температури і пророщують насіння огірків у плоских ємностях з марлею на дні у водному розчині дигідрохлориду S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну з концентрацією 1 мкг/мл протягом 2-4-х діб при температурі 25-30 °C.

Результати пророщування насіння огірків у водному розчині дигідрохлориду S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну з концентрацією 1 мкг/мл підтверджують прискорення росту паростків порівняно з контрольними рослинами: було відмічено збільшення довжини головного кореня, зони росту бічних коренів та кількості бічних коренів на 27,5; 43,7 і 14,3 %, відповідно.

ВИСНОВКИ

Результати дослідження ростостимулюючої дії S-піридинзаміщених меркаптокислот та їх похідних вказують на перспективність пошуку в цьому класі сполук нових ефективних та екологічно безпечних PPP та на необхідність



подальшого дослідження впливу цих синтезованих сполук на інші сільськогосподарські культури.

Доведено, що дигідрохлорид S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну виявляє більш виражену ростостимулюючу активність серед інших вивчених меркаптокислот, та за умов додаткових експериментальних досліджень, його можна використовувати при обробці сільськогосподарських культур з метою підвищення їхньої врожайності та продуктивності.

Під дією дигідрохлорид S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну у концентрації 1 мкг/мл найбільш істотно збільшувалась довжина головного кореня та кількість бічних коренів паростків рослин родини Гарбузових (*Cucurbitaceae*), що може сприяти більш швидкому розвитку гіпокотилу і листя, а це у свою чергу збільшує врожайність та життєздатність рослин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Бабаянц О. В. Биорегуляторы нового поколения для качества урожая / О.В. Бабаянц // Студ. конф. «Биологические препараты и регуляторы роста растений в сельском хозяйстве»: тезисы докладов, г. Краснодар, 24-25 ноября 2010 г. – Краснодар, 2010. – С. 79.
- Калінін Л. Ф. Застосування регуляторів росту в сільському господарстві / Л.Ф. Калинин. – К.: Урожай, 1989. – 168 с.
- Шевелуха В. С. Регуляторы роста растений / В.С. Шевелуха. – М.: Агропромиздат, 1990. – 185 с.
- Жминько О. П. Токсикологическая характеристика регуляторов роста растений – производных N-оксид пиридина: дис. ... канд. биол. наук: 14.03.06. «Токсикология» / Олеся Петровна Жминько. – Киев, 2007. – 226 с.
- Машковский М. Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 14-е изд. – М.: ООО «Новая Волна», Издатель С.Б. Дивов, 2001. – Т. 2. – 608 с.
- Иванов В. Б. Клеточные основы роста растений / В.Б. Иванов. – М.: Наука, 1974. – 222 с.
- Петруша Ю.Ю. Біологічна активність S-гетерилзаміщених тіокислот: дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: 02.00.10. «Біоорганічна хімія» / Юлія Юрївна Петруша. – Запоріжжя, 2012. – 209 с.
- Патент України № 67852, МПК C07C 323/58, C07D 213/00. Дигідрохлорид S-(піридин-4-іл)-L-цистеїну, що має ростостимулюючу активність / Петруша Ю.Ю., Омелянчик Л.О., Бражко О.А., Завгородній М.П.; заявник і патентовласник ЗНУ; Заявл. 18.07.11; Опубл. 12.03.12 – Бюл. № 5. – 5 с.
- Патент України № 67848, МПК A01N43/00, A01N31/00. Спосіб стимуляції пророщування насіння огірків / Петруша Ю.Ю., Омелянчик Л.О., Бражко О.А., Завгородній М.П.; заявник і патентовласник ЗНУ; Заявл. 18.07.11; Опубл. 12.03.12. – Бюл. № 5. – 5 с.

REFERENCES

- Babayants, O. V. (2010) *Bioregulators of new generation for quality of the crop*. Student. Conf. Biological preparations and regulators of plants growth in agriculture. Krasnodar.
- Kalinin, L.F. (1989) *Application of growth regulators in agriculture*. Kiev: Urozhay.
- Shevelukha, V.S. (1990) *Regulators of plants growth*. Moscow: Agropromizdat.
- Zhminko, O. P. (2007) *The toxicological characteristic of regulators of plants growth – derivatives pyridine N-oxide*. Doctoral Dissertation. Kyiv.
- Mashkovsky, M.D. (2001) *Medicinal agents*. Moscow: JSC Novaya Volna, Publisher S. B. Divov.
- Ivanov, V. B. (1974) *Cellular bases of plants growth*. Moscow: Nauka.
- Petrusha, Yu. Yu. (2012) *Biological activity of S-geterilderivates of thioacids*. Doctoral Dissertation. Kyiv.
- Petrusha, Yu.Yu., Omelyanchik, L.A., Brazhko, A.A., Zavgorodny, M.P. (2012). Patent UA 67852. Dihydrochloride of S-(pyridine-4-il)-L-cysteine, which has grow-stimulating activity.
- Petrusha, Yu.Yu., Omelyanchik, L.A., Brazhko, A.A., Zavgorodny, M.P. (2012). Patent UA 67848. Way of stimulation of sprouting of cucumber seeds.



Поступила в редакцію 04.09.2013

Как цитировать:

Петруша Ю.Ю., Омелянчик Л.О. (2013). Пошук ростостимуляторів сільськогосподарських культур серед піридинзаміщених меркаптокислот. *Биологический вестник Мелитопольского государственного педагогического университета имени Богдана Хмельницкого*, 3 (3), 125-134. **crossref**
[http://dx.doi.org/10.7905/bbmstu.v0i3\(6\).544](http://dx.doi.org/10.7905/bbmstu.v0i3(6).544)

© Петруша, Омелянчик, 2013

Users are permitted to copy, use, distribute, transmit, and display the work publicly and to make and distribute derivative works, in any digital medium for any responsible purpose, subject to proper attribution of authorship.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 3.0 License](https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/).