

<https://doi.org/10.15407/dopovidi2021.06.108>

УДК 577.1+577.11+577.2+581.1

І.В. Могільнікова^{1,2}

В.А. Циганкова³, <https://orcid.org/0000-0002-8036-6488>

А.О. Гуренко³, <https://orcid.org/0000-0002-5186-2239>

В.С. Броварець³, <https://orcid.org/0000-0001-6668-3412>

Н.М. Білько¹, <https://orcid.org/0000-0002-3213-0032>

А.І. Ємець^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-6887-0705>

¹ Національний університет “Києво-Могилянська академія”

² ДУ “Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України”, Київ

³ Інститут біорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України, Київ

E-mail: ilona.mogilnikova@gmail.com, yemets.alla@nas.gov.ua

Вплив похідних піразолу на ріст і розвиток рослин в умовах *in vivo* та *in vitro*

Представлено членом-кореспондентом НАН України А.І. Ємець

Досліджено вплив синтетичних низькомолекулярних сполук — похідних піразолу — на ріст і розвиток рослин томата (*Solanum lycopersicum* L.) сорту Money Maker в умовах *in vivo* та *in vitro*. Встановлено, що найбільш виражену активність в умовах *in vivo* виявляє сполука D-pyrazole-3 у концентрації 10^{-8} М. Вперше досліджено вплив цих сполук на морфогенетичний потенціал експлантів *S. lycopersicum* в умовах *in vitro* і показано, що сполуки D-pyrazole-1, D-pyrazole-2 і D-pyrazole-3 ефективно індукують калюсогенез та ризогенез, а також, залежно від концентрації, пряму регенерацію рослин в умовах *in vitro*. Під дією всіх трьох сполук як у концентрації 10^{-9} М, так і 10^{-8} М найефективніше коренеутворення відбувається на пагонових експлантах. Для прямої регенерації рослин із цього типу експлантів найбільш ефективними є сполуки D-pyrazole-1 у концентрації 10^{-9} М або D-pyrazole-2 у концентрації 10^{-8} М, які в подальшому можуть бути рекомендовані для використання в біотехнологічних дослідженнях з генетичного вдосконалення *S. lycopersicum*.

Ключові слова: рослини, *Solanum lycopersicum* L., регулятори росту рослин, похідні піразолу, ауксин, *in vivo*, *in vitro*.

Протягом останніх десятиліть в усьому світі, і в Україні зокрема, зміни клімату, які пов'язані насамперед із підвищенням середньорічної температури, негативно впливають на ріст і розвиток рослин. Через засолення ґрунтів, посуху, а також інші абіотичні та біотичні стреси страждають перш за все сільськогосподарські культури, що призводить до значних

Цитування: Могільнікова І.В., Циганкова В.А., Гуренко А.О., Броварець В.С., Білько Н.М., Ємець А.І. Вплив похідних піразолу на ріст і розвиток рослин в умовах *in vivo* та *in vitro*. Допов. Нац. акад. наук Укр. 2021. № 6. С. 108—119. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2021.06.108>

втрат їх врожаїв, а це безпосередньо пов'язано з питанням продовольчої безпеки населення. Оскільки томат (*Solanum lycopersicum* L., родина Solanaceae) є однією з важливих сільсько-господарських культур [1], а Україна, за даними FAO, входить до двадцятки світових лідерів за виробництвом томатів (у 2019 р. загальний об'єм виробництва цієї культури в Україні становив 2,2 млн т [2], стале вирощування цієї цінної для здоров'я людини культури [3] є вкрай актуальним питанням. Однак перешкодою для отримання високих і якісних врожаїв цієї культури є її низька толерантність до стресових чинників абіотичної та біотичної природи [4]. Використання хімічних засобів захисту рослин у більшості випадків негативно впливає на біогеоценоз, вони накопичуються у плодах і можуть становити загрозу для здоров'я людини [5]. Для покращення росту і продуктивності рослин, зокрема томата, та підвищення їх стійкості до несприятливих факторів зовнішнього середовища широко застосовуються фітогормони та їх синтетичні аналоги [6]. Поряд з цим напрямком вельми актуальним завданням сучасної біотехнології є розробка біотехнологічних підходів для отримання нових форм рослин томата з поліпшеними комерційно важливими ознаками: підвищеною врожайністю та стійкістю до хвороб.

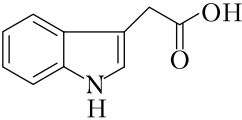
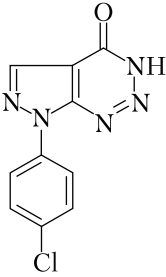
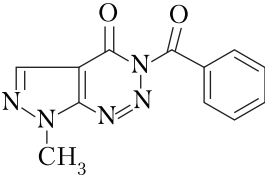
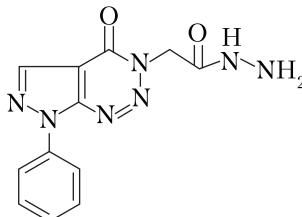
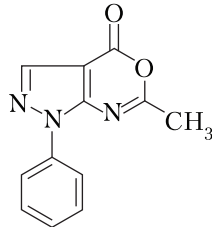
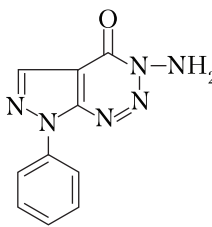
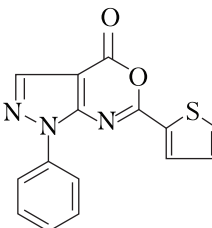
Протягом останніх років проводиться пошук нових ефективних регуляторів росту рослин на основі синтетичних низькомолекулярних гетероциклічних сполук, похідних різних класів, зокрема піридину, піримідину, оксазолу, оксазоло-піримідину та піразолу, які виявляють подібну гормонам рослин ауксином і цитокінінам рістрегулювальну активність [7]. Розробка нових ефективних регуляторів росту на основі зазначених класів хімічних сполук буде сприяти вирішенню проблеми поліпшення росту і розвитку рослин протягом періоду вегетації та в умовах *in vitro*, підвищення врожайності і стійкості рослин до стрес-факторів абіотичного та біотичного характеру.

Ми ставили за мету дослідити вплив ряду низькомолекулярних синтетичних гетероциклічних сполук — похідних піразолу, на морфометричні показники та морфогенетичний потенціал рослин, зокрема томата (*Solanum lycopersicum* L.), в умовах *in vivo* та *in vitro* з метою відбору найбільш перспективних сполук для їх подальшого ефективного використання.

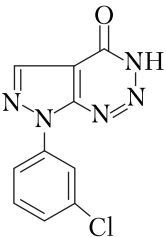
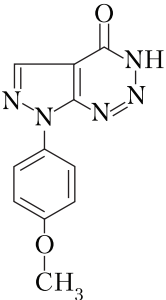
Матеріали та методи. Досліджено вплив восьми низькомолекулярних синтетичних гетероциклічних сполук, похідних піразолу (D-pyrazole) (табл. 1) з метою перевірки їх впливу на морфометричні показники рослин томата в порівнянні з таким фітогормоном ауксинового класу, як ІОК (2-(1*H*-індол-3-іл)оцтова кислота) (Sigma-Aldrich, США) (див. табл. 1). Сполуки D-pyrazole-1 — D-pyrazole-8 синтезовані в Інституті біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України із застосуванням методів, описаних у роботі [8]. Зазначені сполуки використовували в дослідженнях у концентраціях 10^{-9} та 10^{-8} М.

Як вихідний матеріал використовували насіння модельного сорту томата Money Maker. Насіння стерилізували протягом 2—3 хв у 70 %-му етанолі, 15 хв у 5 %-му розчині гіпохлориту натрію, тричі промивали по 10 хв у стерильній дистильованій воді, висівали в контейнери, що містили субстрат (перліт), до якого додавали або дистильовану воду (контроль), або водні розчини синтетичних сполук — похідних піразолу, пророщували в темряві за температури 22 °С протягом 4 діб. Ефективність дії синтетичних сполук в умовах *in vivo* порівнювали з ефективністю ауксину ІОК, використовуючи його в аналогічних із синтетичними сполуками концентраціях 10^{-9} та 10^{-8} М.

Таблиця 1. Хімічні структури фітогормону ІОК та досліджуваних синтетичних гетероциклічних сполук, похідних піразолу (D-pyrazole), використаних у дослідженні

Сполука	Структурна формула	Назва сполуки за ІЮПАК і молекулярна маса
ІОК		2-(1 <i>H</i> -індол-3-іл)оцтова кислота MW = 175,19
D-pyrazole-1		7-(4-Хлорофеніл)-3,7-дигідро-4 <i>H</i> -піразоло[3,4- <i>d</i>][1,2,3]триазин-4-он MW = 137,10
D-pyrazole-2		3-Бензоіл-7-метил-3,7-дигідро-4 <i>H</i> -піразоло[3,4- <i>d</i>] [1,2,3]триазин-4-он MW = 257,25
D-pyrazole-3		2-(4-Оксо-7-феніл)-4,7-дигідро-3 <i>H</i> -піразоло[3,4- <i>d</i>][1,2,3]триазин-3-іл)ацетогідрозид MW = 285,27
D-pyrazole-4		6-Метил-1-фенілпіразоло[3,4- <i>d</i>][1,3]оксазин-4(1 <i>H</i>)-он MW = 227,22
D-pyrazole-5		3-Аміно-7-феніл-3,7-дигідро-4 <i>H</i> -піразоло[3,4- <i>d</i>][1,2,3]триазин-4-он MW = 228,21
D-pyrazole-6		1-Феніл-6-(тіофен-2-іл)піразоло[3,4- <i>d</i>][1,3]-оксазин-4(1 <i>H</i>)-он MW = 295,32

Продовження табл. 1

Сполука	Структурна формула	Назва сполуки за ІЮПАК і молекулярна маса
D-pyrazole-7		7-(3-Хлорофеніл)-3,7-дигідро-4H-піразоло[3,4- <i>d</i>][1,2,3]триазин-4-он MW = 247,65
D-pyrazole-8		7-(4-Метоксифеніл)-3,7-дигідро-4H-піразоло[3,4- <i>d</i>][1,2,3]триазин-4-он MW = 243,23

Після цього експериментальні зразки переносили на світло (фотоперіод 16/8 год) і вирощували за температури 24 °С і відносної вологості повітря 60–80 % протягом 30 діб. Вплив синтетичних сполук на проростання насіння досліджували через 30 діб, порівнюючи з контролем. При цьому кількість насіння, що проросло в контролі, визначали як 100 %. Також оцінювали вплив синтетичних сполук на ріст пагонів і коренів, вимірюючи їх висоту, кількість, довжину та сиру біомасу рослин за загальноприйнятими методами. Кожний дослід повторювали не менше трьох разів.

Для вивчення впливу похідних піразолу (D-pyrazole) на морфогенетичний потенціал експлантів томата, культивованих в умовах *in vitro*, речовини D-pyrazole-1 – D-pyrazole-3 додавали до середовища MST [9] також у концентраціях 10^{-9} та 10^{-8} М.

Для досліджень *in vitro* рослини томата вводили в культуру за методикою, розробленою нами раніше [9]. Для цього стерильне насіння висаджували у чашки Петрі (діаметром 9 см) на стерильне живильне середовище MST (контроль) або MST, до якого додавали похідне піразолу в досліджуваній концентрації (10^{-9} або 10^{-8} М), і культивували за температури 22–24 °С і з фотоперіодом 16/8 год. Як експланти використовували сегменти 10-добових проростків (листові та пагонові експланти). Частоту регенерації рослин і ризогенезу оцінювали як співвідношення кількості експлантів, на яких відбувалася регенерація рослини чи утворювалися корені через 21 добу, до загальної кількості експлантів, використаних у досліді, помножене на 100 %. Кожний експеримент повторювали не менше трьох разів.

Статистичну обробку результатів досліджень *in vivo* та *in vitro* здійснювали за допомогою програмного пакета Microsoft Office 2010, достовірність результатів підтверджували, використовуючи *t*-критерій Стюдента для 5 %-го рівня значущості.

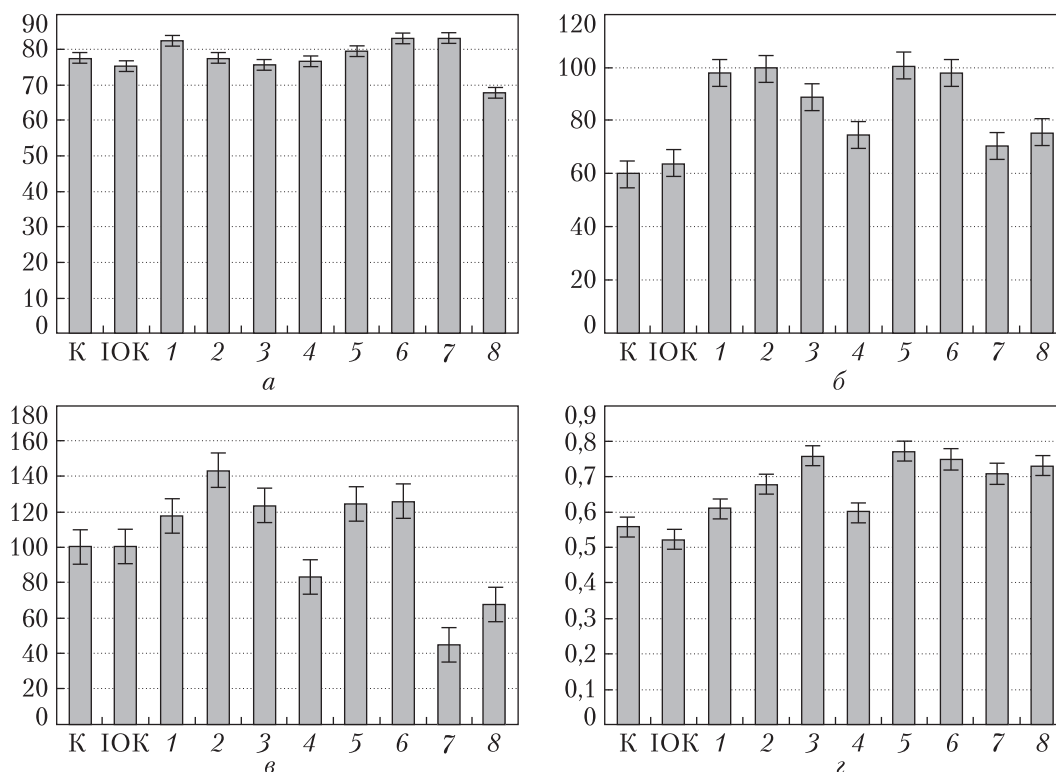


Рис. 1. Вплив похідних піразолу D-pyrazole-1—D-pyrazole-8 (1—8) і IOK у концентрації 10^{-9} М на ріст і розвиток *S. lycopersicum* у порівнянні з контролем (К): а — висота пагонів (мм); б — довжина головних коренів (мм); в — загальна кількість головних та бічних коренів (шт.); г — сира маса рослин (г/10 шт.)

Результати та обговорення. Вплив похідних піразолу на ріст та розвиток рослин томата, вирощених в умовах *in vivo*. Відомо, що гормони рослин ауксини регулюють процеси проростання насіння, формування та розвитку кореневої системи, елонгації та росту пагонів, а також білкового синтезу в клітинах рослин [10, 11]. З урахуванням цього нами виконано порівняльний аналіз впливу фітогормону IOK та низькомолекулярних синтетичних гетероциклічних сполук, похідних піразолу (D-pyrazole-1 — D-pyrazole-8), на ріст та розвиток рослин томата в умовах *in vivo*.

Встановлено, що сполуки D-pyrazole-1 — D-pyrazole-8, застосовані у концентраціях 10^{-9} та 10^{-8} М, виявляють дещо подібну або вищу порівняно з фітогормоном IOK рістрегулювальну активність, позитивно впливаючи на показники проростання насіння та змінюючи морфометричні параметри 30-добових рослин томата: зокрема, стимулюють ріст головного пагона та кореня, індукують формування бічних коренів і збільшують сирину масу рослин. Серед протестованих сполук найвищу активність виявляли похідні D-pyrazole-1, 2, 3, 5 та 6, використані в концентрації 10^{-9} М, та сполуки D-pyrazole-3, 7 та 8 у концентрації 10^{-8} М (рис. 1, 2).

У результаті аналізу впливу досліджуваних сполук на проростання насіння встановлено, що під їх дією в концентрації 10^{-9} М найбільш ефективними виявилися сполуки D-pyrazole-1, 3, 5 і 6. Найвищий показник проростання насіння зафіксовано у разі використання 10^{-9} М D-pyrazole-6, він був вищим майже на 30 % порівняно з контролем. У досліді

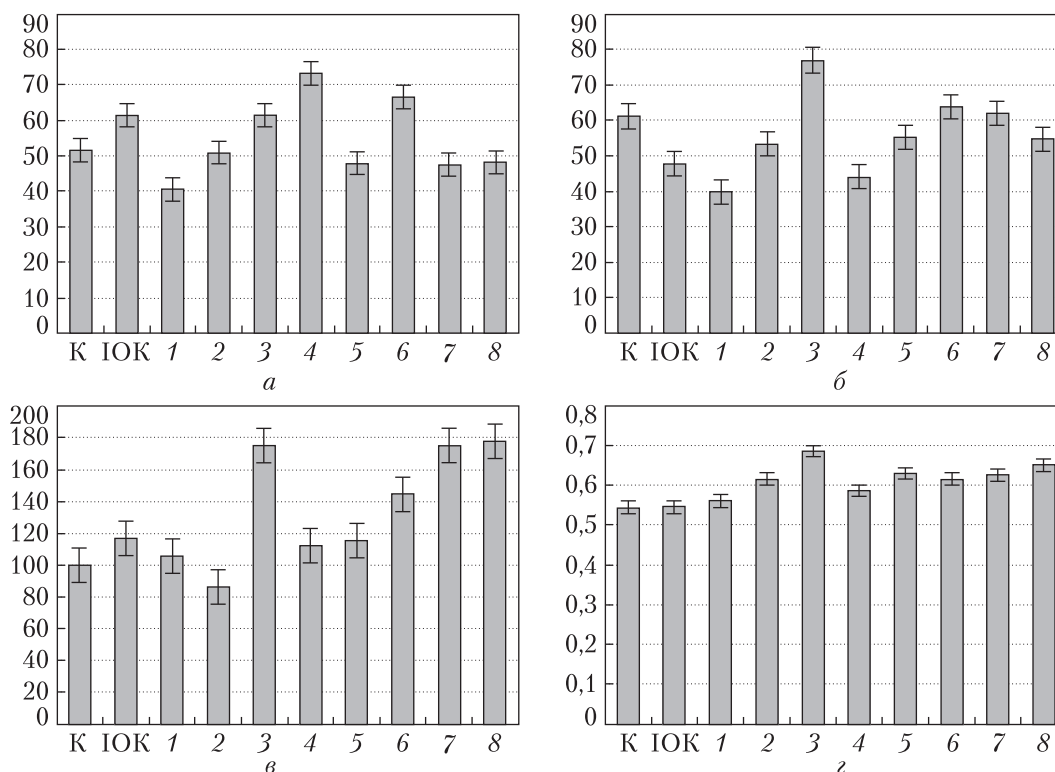


Рис. 2. Вплив похідних піразолу D-pyrazole-1–D-pyrazole-8 (1–8) і IOK у концентрації 10^{-8} М на ріст і розвиток *S. lycopersicum* у порівнянні з контролем (К): а – висота пагонів (мм); б – довжина головних коренів (мм); в – загальна кількість головних та бічних коренів (шт.); г – сира маса рослин (г/10 шт.)

з використанням D-pyrazole-1, 3 і 5 у концентрації 10^{-9} М показник схожості насіння збільшувався на 22–24 % порівняно з контролем. Сполуки D-pyrazole-1, 3, 5 і 6 також виявляли ефективнішу дію, ніж IOK, лише сполука D-pyrazole-7 гальмувала процес проростання насіння. Під дією концентрації на порядок вище (10^{-8} М) сполуки D-pyrazole-1, 3, 5, 6 і 7 стимулювали процес проростання насіння – показник схожості збільшувався майже на 10–23 % порівняно з контролем і IOK.

Беручи до уваги результати попередніх досліджень, які свідчать про роль ауксинів у проростанні насіння через перехід насіння до стану спокою шляхом активації сигнальних шляхів, пов'язаних із синтезом абсцизової кислоти [12], отримані нами дані стосовно стимулювального ефекту деяких похідних піразолу на схожість насіння томата можна пояснити застосуванням цих сполук у достатньо низьких, не гальмуючих проростання насіння концентраціях 10^{-9} М та 10^{-8} М або взагалі відсутністю дії похідних піразолу на активацію сигнальних шляхів, пов'язаних із синтезом абсцизової кислоти. На доказ першого припущення свідчать отримані дані щодо відсутності інгібіторної дії фітогормону IOK, який використовували в аналогічних концентраціях – 10^{-9} М та 10^{-8} М, на проростання насіння томата.

Згідно з результатами оцінки впливу похідних піразолу на 30-добові рослини, застосування деяких з них у концентрації 10^{-9} М спричиняло збільшення висоти пагонів приблизно на 6 %, довжини головних коренів – на 65 %, кількості головних та бічних коренів – на 42 %, сирі маси рослин – на 38 % порівняно з контрольними рослинами, вирощеними

без будь-яких регуляторів росту (див. рис. 1). Отже, досліджувані похідні піразолу в концентрації 10^{-9} М виявляють істотний вплив переважно на ріст і розвиток кореневої системи у томата, а також сприяють накопиченню сирової маси рослин.

Отримані морфометричні показники 30-добових рослин, вирощених із застосуванням похідних піразолу в концентрації 10^{-8} М, були нижчими, порівнянними або перевищували морфометричні показники рослин, вирощених без регуляторів росту (контроль) або в присутності ауксину ІОК. Так, під дією деяких сполук підвищувався показник схожості насіння (майже на 23 %), збільшувалася висота пагонів — на 42 %, загальна довжина головних коренів — на 26 %, кількість головних та бічних коренів — на 78 %, сира маса рослин — майже на 27 % порівняно з контролем (див. рис. 2). Лідером серед використаних похідних піразолу в концентрації 10^{-8} М визначено сполуку D-pyrazole-3: значно підвищувалася схожість насіння, ріст і розвиток рослин томата за рахунок індукції росту пагонів та коренів, а також індукції формування бічних коренів. Сполуки D-pyrazole-7 і D-pyrazole-8 переважно індукують формування бічних коренів та збільшення маси рослин. Сполука D-pyrazole-7 позитивно впливає також на проростання насіння (див. рис. 2).

Слід зазначити, що у разі використання ІОК у концентрації 10^{-9} М не виявлено яких-небудь помітних ефектів на ріст і розвиток рослин порівняно з контролем. У досліді зі збільшенням концентрації до 10^{-8} М спостерігали індукцію росту пагонів та утворення бічних коренів, однак при цьому ріст головних коренів у довжину гальмувався.

Отримані дані свідчать про те, що похідні піразолу виявляють стимулювальну на ріст головних коренів рослин дію, яка менш характерна для ауксинів, які, як відомо, інгібують елонгацію клітин головних коренів у деяких видів рослин, уповільнюючи їх ріст у довжину [10, 13]. Вочевидь, що стимулювальний ефект хімічних сполук пояснюється їх застосуванням у досить низьких концентраціях 10^{-9} та 10^{-8} М, які не спричиняють гальмування росту коренів у довжину. Отже, у наших дослідженнях також спостерігався слабкий інгібіторний ефект ІОК у концентрації 10^{-8} М на ріст головних коренів рослин (див. рис. 2, б), однак даного ефекту не виявлено у разі зменшення концентрації ІОК до 10^{-9} М (див. рис. 1, б).

За результатами проведених досліджень, найбільш виражену активність на ріст і розвиток рослин томата в умовах *in vivo* виявляла сполука D-pyrazole-3 у концентрації 10^{-8} М (див. рис. 2). Отримані нами дані свідчать про те, що похідні піразолу виявляють подібний до ауксинів стимулювальний ефект на процеси елонгації та індукції утворення латеральних коренів рослин, внаслідок чого збільшується їх кількість і довжина [10, 13]. Подібний ефект також виявлено для ауксину ІОК у низькій концентрації 10^{-8} М (див. рис. 2, в).

Цікавим виявилось те, що всі досліджувані похідні піразолу в концентраціях 10^{-9} та 10^{-8} М сприяли підвищенню біомаси рослин порівняно з контролем і ІОК (див. рис. 1, з і 2, з), причому найбільш виражені ефекти відбувалися у разі їх використання в концентрації 10^{-9} М. Отримані дані свідчать про те, що похідні піразолу виявляють стимулювальний ефект на процес накопичення біомаси рослин, що вочевидь обумовлено подібним до ауксинів впливом цих сполук на білковий синтез у клітинах рослин [11]. Проте аналогічного ефекту не виявлено для ауксину ІОК, що можна пояснити застосуванням цього гормону у достатньо низьких концентраціях: 10^{-9} та 10^{-8} М.

Вплив похідних піразолу на регенерацію рослин томата в умовах in vitro. Як відомо, на різних етапах культивування ізолюваних клітин в умовах *in vitro* іноді спостерігається

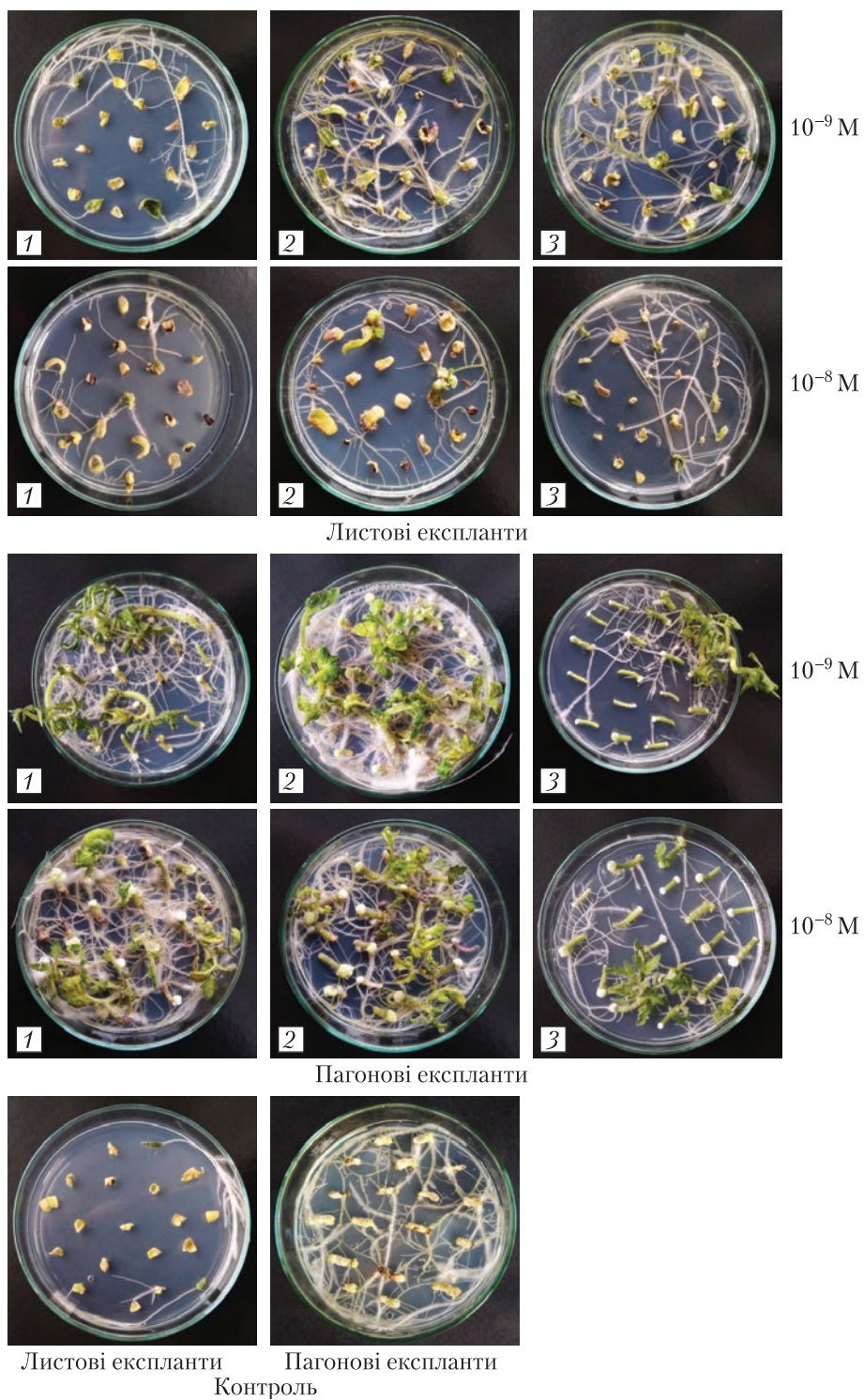


Рис. 3. Вплив похідних піразолу D-pyrazole-1, D-pyrazole-2 і D-pyrazole-3 (1, 2, 3 відповідно) у концентраціях 10^{-9} та 10^{-8} М на регенерацію рослин і коренеутворення на листових та пагонових експлантах *S. lycopersicum* в умовах *in vitro* порівняно з контролем

мінливість геному рослин-регенерантів, отриманих на штучних живильних середовищах, що пов'язано з їх адаптацією до умов ізолюваного росту [14]. Виявлено, що мінливість геному в культивованих тканинах рослин має не випадковий характер, а саме частина послідовностей, що зазнають перебудов у культурі *in vitro*, відрізняються також видовою варіабельністю. Відомо, що регулятори росту природного та синтетичного походження, які додають до живильних середовищ для культивування ізолюваних клітин рослин *in vitro*, виявляють значний вплив на експресію генів у клітинах рослин. У результаті цих процесів можна отримати нові форми рослин зі зміненим морфогенетичним потенціалом, підвищеною продуктивністю та адаптаційними властивостями до стресових чинників абіотичної або біотичної природи [15]. Враховуючи, що за різних концентрацій похідні піразолу можуть виявляти дещо різні ефекти, нами було досліджено вплив найбільш ефективних за результатами скринінгу *in vivo* речовин D-pyrazole-1 — D-pyrazole-3, які додавали до живильного середовища також у концентраціях 10^{-9} та 10^{-8} М, на соматичний органогенез (утворення калюсу, регенерацію пагонів та коренів) різних типів експлантів рослин томата в умовах *in vitro* (рис. 3).

Ефективне утворення калюсу спостерігали переважно на пагонових експлантах вже на 3–5 добу на живильних середовищах, які містили D-pyrazole-1 — D-pyrazole-3 у концентрації 10^{-9} або 10^{-8} М. На листових експлантах найвищу частоту калюсогенезу виявлено лише під дією D-pyrazole-3: за концентрації 10^{-9} М цей показник становив $75,4 \pm 4,14$ %, а за концентрації 10^{-8} М — $70 \pm 6,2$ % (табл. 2). При цьому спостерігали утворення двох типів калюсу: білий щільний, гранулярний і зелений нещільний, на поверхні якого надалі формувалися пагони. На середовищах, що містили досліджувані сполуки, спостерігали також формування коренів вже на 3–4 добу, натомість на безгормональному середовищі (контроль) корені утворювалися на 7–9 добу. Швидка індукція розвитку кореневої системи може свідчити про подібну до ауксинів дію досліджуваних сполук. Також на експлантах спостерігали регенерацію пагонів (див. табл. 2).

Інтенсивне утворювання коренів на листових експлантах спостерігали за дії сполук D-pyrazole-2 і D-pyrazole-3 у концентрації 10^{-9} М, однак на пагонових експлантах найбільш

Таблиця 2. Вплив сполук D-pyrazole-1 — D-pyrazole-3 на морфогенетичний потенціал експлантів *S. lycopersicum* в умовах *in vitro*

Варіант живильного середовища MST, (концентрація сполуки)	Калюсогенез, %		Ризогенез, %		Регенерація пагонів, %	
	Листові експланти	Пагонові експланти	Листові експланти	Пагонові експланти	Листові експланти	Пагонові експланти
Контроль (0 М)	$16,8 \pm 3,7$	$74,6 \pm 2,5$	$29,2 \pm 8,2$	$59,4 \pm 9,05$	—	$1,6 \pm 0,93$
MSTP-1 (10^{-9} М)	$22,4 \pm 4,8$	$99,2 \pm 0,49$	$45,4 \pm 4,82$	$98,4 \pm 0,92$	—	$62,6 \pm 7,28$
MSTP-2 (10^{-9} М)	$42,6 \pm 8,47$	$99,8 \pm 0,2$	$77,8 \pm 4,61$	100 ± 0	—	$49,6 \pm 5,92$
MSTP-3 (10^{-9} М)	$75,4 \pm 4,14$	$99 \pm 0,55$	$84,6 \pm 3,56$	$81,4 \pm 5,8$	$1,6 \pm 1,03$	$20 \pm 3,69$
MSTP-1 (10^{-8} М)	$57,4 \pm 5,5$	$99,4 \pm 0,4$	$80 \pm 4,3$	100 ± 0	$4,4 \pm 1,97$	$37,6 \pm 5,68$
MSTP-2 (10^{-8} М)	$54 \pm 4,6$	$99,8 \pm 0,2$	$79 \pm 4,11$	100 ± 0	$1,6 \pm 1,03$	$56,4 \pm 10,4$
MSTP-3 (10^{-8} М)	$70 \pm 6,2$	$97,6 \pm 2,3$	$77 \pm 4,57$	$90,8 \pm 3,3$	—	$38,8 \pm 10,2$

Примітка. MSTP-1, MSTP-2 та MSTP-3 — живильні середовища, що містили сполуки D-pyrazole-1, D-pyrazole-2 і D-pyrazole-3 відповідно.

інтенсивно корені утворювалися за цієї концентрації за наявності в середовищі сполук D-pyrazole-1 — D-pyrazole-3. Також на цих експлантах відбувалася регенерація рослин. Найефективнішою виявилася сполука D-pyrazole-1, під дією якої відбувалося найінтенсивніше утворення коренів ($98,4 \pm 0,92$ %) та пагонів ($62,6 \pm 7,28$ %). Незначні показники регенерації пагонів на листових експлантах спостерігали у разі додавання до середовища 10^{-9} М D-pyrazole-3 ($1,6 \pm 1,03$ %), а також 10^{-8} М D-pyrazole-1 ($4,4 \pm 1,97$ %) та D-pyrazole-2 ($1,6 \pm 1,03$ %).

У рослин, вирощених на живильних середовищах, що містили сполуки D-pyrazole-1 — D-pyrazole-3 у концентрації на порядок вищій (10^{-8} М), також спостерігали переважно ефективну регенерацію коренів як на листових, так і на пагонових експлантах, порівняно з контролем. Також сполуки у цій концентрації індукували регенерацію рослин на листових експлантах (окрім D-pyrazole-3), найвищий показник регенерації ($56,4 \pm 10,4$ %) зафіксовано на пагонових експлантах під дією D-pyrazole-2 (див. табл. 2).

Отже, ризогенез у культурі *in vitro* найінтенсивніше відбувається на пагонових експлантах під дією всіх трьох сполук — D-pyrazole-1, D-pyrazole-2 та D-pyrazole-3 як у концентрації 10^{-9} М, так і 10^{-8} М. Для ефективної регенерації рослин *S. lycopersicum* рекомендовано використовувати сполуки D-pyrazole-1 у концентрації 10^{-9} М або D-pyrazole-2 у концентрації 10^{-8} М. Ці сполуки можна віднести до потенційно біологічно активних речовин, які у низьких концентраціях можуть бути використані окремо або в комбінації з іншими регуляторами росту для маніпуляцій з рослинами в умовах *in vitro*. Це має економічні переваги у практичному використанні цих хімічних сполук у біотехнологічних розробках.

Таким чином, отримані нами дані свідчать про перспективність використання синтетичних низькомолекулярних гетероциклічних сполук, похідних піразолу як нових ефективних замінників фітогормонів ауксинів для регуляції росту та розвитку рослин, зокрема *S. lycopersicum*.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Gerszberg A., Hnatuszko-Konka K., Kowalczyk T., Kononowicz A.K. Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 2015. **120**. P. 881–902. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0664-4>
2. FAOSTAT. Countries by commodity. URL: http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity. (Дата звернення 15.07.2021).
3. Agarwal S., Rao A.V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ*. 2000. **163**, № 6. P. 739–744.
4. Kissoudis C., Sunarti S., van de Wiel C., Visser R.G.F., van der Linden C. G., Bai Yu. Responses to combined abiotic and biotic stress in tomato are governed by stress intensity and resistance mechanism. *J. Exp. Bot.* 2016. **67**, № 17. P. 5119–5132. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw285>
5. Aktar W., Sengupta D., Chowdhury A. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip. Toxicol.* 2009. **2**, № 1. P. 1–12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>
6. Choudhury S., Islam N., Sarkar M.D., Ali M.A. Growth and yield of summer tomato as influenced by plant growth regulators. *Intl. J. Sustain. Agric.* 2013. **5**, № 1. P. 25–28. <https://doi.org/10.5829/idosi.ijsa.2013.05.01.317>
7. Tsygankova V.A., Andrushevich Ya.V., Shtompel O.I., Romaniuk O.V., Yaikova M.Yu., Hurenko A.O., Solomyanny R.M., Abdurakhmanova E.R., Klyuchko S.V., Holovchenko O.V., Bondarenko O.M., Brovarets V.S. Application of synthetic low molecular weight heterocyclic compounds derivatives of pyrimidine,

- pyrazole and oxazole in agricultural biotechnology as a new plant growth regulating substances. *Intl. J. Med. Biotechnol. Genetics*. 2017. S2:002. P. 10–32. <https://doi.org/10.19070/2379-1020-SI02002>
8. Gurenko A.O., Khutova B.M., Klyuchko S.V., Vasilenko A.N., Brovarets V.S. Synthesis of novel pyrazolo[3,4-d][1,2,3]triazines. *Chem. Het. Comp.* 2014. **50**, № 4. P. 528–536. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1503-6>
 9. Buziashvili A., Cherednichenko L., Kropyvko S., Yemets A. Transgenic tomato lines expressing human lactoferrin show increased resistance to bacterial and fungal pathogens. *Biocatal. Agr. Biotech.* 2020. **25**. 101602. P. 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101602>
 10. Woodward A.W., Bartel B. Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann. Bot.* 2005. **95**, № 5. P. 707–735. <https://doi.org/10.1093/aob/mci083>
 11. Key J.L., Barnett N.M., Lin C.Y. RNA and protein biosynthesis and the regulation of cell elongation by auxin. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1967. **144**, № 1. P. 49–62. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1967.tb34000.x>
 12. Shu K., Liu X.-d., Xie Q., He Z.-h. Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination. *Mol. Plant.* 2016. **9**. P. 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.010>
 13. Cleland R.E. Auxin and cell elongation. *Plant hormones*: Davies P.J. (Ed.). Dordrecht: Springer, 1995. P. 214–227. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0473-9_10
 14. Locy R.D. Genetic variation in tissue culture as a consequence of the morphogenic process. *Applications of biotechnology in forestry and horticulture*: Dhawan V. (Ed.). Boston, MA: Springer, 1989. P. 165–179. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-1321-2_13
 15. Tsygankova V.A., Andrushevich Ya.V., Shysha E.N., Biliavska L.O., Galagan T.O., Galkin A.P., Yemets A.I., Iutynska G.A., Blume Ya.B. RNAi-mediated resistance against plant parasitic nematodes of wheat plants obtained *in vitro* using bioregulators of microbiological origin. *Cur. Chem. Biol.* 2019. **13**, № 1. P. 73–89. <https://doi.org/10.2174/2212796812666180507130017>

Надійшло до редакції 31.07.2021

REFERENCES

1. Gerszberg, A., Hnatuszko-Konka, K., Kowalczyk, T. & Kononowicz, A. K. (2015). Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) in the service of biotechnology. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 120, pp. 881-902. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0664-4>
2. FAOSTAT. Countries by commodity. Retrieved from http://www.fao.org/faostat/en/#rankings/countries_by_commodity
3. Agarwal, S. & Rao, A. V. (2000). Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ: Canadian Medical Association Journal*, 163, No. 6, pp. 739-744.
4. Kissoudis, C., Sunarti, S., van de Wiel, C., Visser R. G. F., van der Linden, C. G. & Bai, Yu. (2016). Responses to combined abiotic and biotic stress in tomato are governed by stress intensity and resistance mechanism. *J. Exp. Bot.*, 67, No. 17, pp. 5119-5132. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw285>
5. Aktar, W., Sengupta, D. & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdiscip. Toxicol.*, 2, No. 1, pp. 1-12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>
6. Choudhury, S., Islam, N., Sarkar, M. D. & Ali, M. A. (2013). Growth and yield of summer tomato as influenced by plant growth regulators. *Intl. J. Sustain. Agric.*, **5**, No. 1, pp. 25-28. <https://doi.org/10.5829/idosi.ijsa.2013.05.01.317>
7. Tsygankova, V., Andrushevich, Ya., Shtompel, O., Romaniuk, O., Yaikova, M., Hurenko, A., Solomyanny, R., Abdurakhmanova, E., Klyuchko, S., Holovchenko, O., Bondarenko, O., Brovarets, V. (2017). Application of synthetic low molecular weight heterocyclic compounds derivatives of pyrimidine, pyrazole and oxazole in agricultural biotechnology as a new plant growth regulating substances. *Intl. J. Med. Biotechnol. Genetics*, S2:002, pp. 10-32. <https://doi.org/10.19070/2379-1020-SI02002>
8. Gurenko, A. O., Khutova, B. M., Klyuchko, S. V., Vasilenko, A. N. & Brovarets, V. S. (2014). Synthesis of novel pyrazolo[3,4-d][1,2,3]triazines. *Chem. Het. Comp.*, 50, No. 4, pp. 528-536. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1503-6>
9. Buziashvili, A., Cherednichenko, L., Kropyvko, S. & Yemets, A. (2020). Transgenic tomato lines expressing human lactoferrin show increased resistance to bacterial and fungal pathogens. *Biocatal. Agr. Biotech.*, **25**, 101602, pp. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101602>

10. Woodward, A. W. & Bartel, B. (2005). Auxin: regulation, action, and interaction. *Ann. Bot.*, 95, No. 5, pp. 707-735. <https://doi.org/10.1093/aob/mci083>
11. Key, J. L., Barnett, N. M. & Lin, C. Y. (2006). RNA and protein biosynthesis and the regulation of cell elongation by auxin. *Ann. New York Acad. Sci.*, 144, No. 1, pp. 49-62. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1967.tb34000.x>
12. Shu, K., Liu, X.-d., Xie, Q. & He, Z.-h. (2016). Two faces of one seed: hormonal regulation of dormancy and germination. *Mol. Plant.*, 9, pp. 34-45. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.010>
13. Cleland, R. E. (1995). Auxin and cell elongation. In Davies, P. J. (Ed.). *Plant hormones*. Dordrecht: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-011-0473-9_10
14. Locy, R. D. (1989). Genetic variation in tissue culture as a consequence of the morphogenic process. In Dhawan, V. (Ed.). *Applications of biotechnology in forestry and horticulture* (pp. 165-179). Boston, MA: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4684-1321-2_13
15. Tsygankova, V. A., Andrushevich, Ya. V., Shysha, E. N., Biliavska, L. O., Galagan, T. O., Galkin, A. P., Yemets, A. I., Iutynska, G. A. & Blume, Ya. B. (2019). RNAi-mediated resistance against plant parasitic nematodes of wheat plants obtained *in vitro* using bioregulators of microbiological origin. *Cur. Chem. Biol.*, 13, No. 1, pp. 73-89. <https://doi.org/10.2174/2212796812666180507130017>

Received 31.07.2021

I.V. Mohilnikova^{1,2},

V.A. Tsygankova³, <https://orcid.org/0000-0002-8036-6488>

A.O. Gurenko³, <https://orcid.org/0000-0002-5186-2239>

V.S. Brovarets³, <https://orcid.org/0000-0001-6668-3412>

N.M. Bilko¹, <https://orcid.org/0000-0002-3213-0032>

A.I. Yemets^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-6887-0705>

¹ National University of "Kyiv-Mohyla Academy"

² Institute of Food Biotechnology and Genomics of the NAS of Ukraine, Kyiv

³ V.P. Kuchar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv

E-mail: ilona.mogilnikova@gmail.com, yemets.alla@nas.gov.ua

INFLUENCE OF PYRAZOLE DERIVATIVES ON PLANT GROWTH AND DEVELOPMENT *IN VIVO* AND *IN VITRO*

The action of synthetic low molecular weight compounds – pyrazole derivatives – on the growth and development of tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) of the Money Maker cultivar *in vivo* and *in vitro* is studied. It is found that the compound D-pyrazole-3 at a concentration of 10^{-8} M demonstrates the most pronounced action on the growth and development of tomato plants *in vivo*. The effect of these compounds on the morphogenetic potential of *S. lycopersicum* explants *in vitro* is studied for the first time, and it is found that compounds D-pyrazole-1, D-pyrazole-2 and D-pyrazole-3 effectively induce callusogenesis and rhizogenesis, as well as, depending on the concentration, direct plant regeneration *in vitro*. Under the action of all three compounds, both at a concentration of 10^{-9} M and 10^{-8} M, the most effective root formation occurs on shoot explants. For the direct plant regeneration from this type of explants, the most effective compounds are D-pyrazole-1 at a concentration of 10^{-9} M or D-pyrazole-2 at a concentration of 10^{-8} M, which can then be recommended for the use in the biotechnological research of the genetic improvement of *S. lycopersicum*.

Keywords: plants, *Solanum lycopersicum* L., plant growth regulators, pyrazole derivatives, auxin, *in vivo*, *in vitro*.