

Огляд

УДК 58.04

ГІДРАЗИД МАЛЕЇНОВОЇ КИСЛОТИ – ФІЗІОЛОГІЧНО АКТИВНА СПОЛУКА ШИРОКОГО СПЕКТРУ ДІЇ

І. Тіханков

*Дніпропетровський національний університет
вул. Наукова, 13, Дніпропетровськ 49050, Україна
e-mail: 24traven@ukr.net*

Розглянуто окремі аспекти фізіологічної активності гідразиду малеїнової кислоти у разі обробки ним вищих рослин. Значну увагу приділено механізму дії, мутагенним і кластогенним властивостям препарату. Проаналізовано взаємодії регулятора росту з біоорганічними молекулами, його вплив на активність ферментів і гормональний баланс. Розглянуто проблеми і перспективи практичного застосування препарату.

Ключові слова: гідразид малеїнової кислоти, мутаген, регулятор росту, ретардант, фізіологічно активна сполука.

Гідразид малеїнової кислоти (ГМК) є сполукою широкого спектру дії. Тому його можна класифікувати як гербіцид, мутаген, регулятор росту або ретардант, залежно від характеру впливу на рослини. В англомовній хімічній і біологічній фаховій літературі слово „retardant“ використовується для позначення сполук і препаратів, які виключно гальмують будь-який процес. Саме з цього аспекту почалося вивчення фізіологічної дії ГМК і можливостей його практичного застосування. Перші роботи з’явилися ще на початку 50-х років минулого століття [27, 52, 65]. Від самого початку вони носили не лише загальний, але і вузькоспеціальний характер. Вивчалися процеси поглинання і транспорту [29, 90], мутагенезу [35, 46, 50, 51], взаємодії з іншими речовинами [31, 86, 93], вплив на перебіг клітинного циклу [1, 42] тощо. Вивчення фізіологічної дії ГМК проводилося на багатьох об’єктах і мало різноплановий характер [10, 54, 58, 92, 94]. Тепер більшість робіт спрямована на з’ясування механізмів мутагенної і кластогенної активності ГМК [9, 26, 35, 71, 82, 96]. Такий сталий інтерес до цієї речовини обумовлений двома причинами. Перша – це широкий спектр дії. Друга – загальні тенденції розвитку фізіології рослин. Вони полягають у тому, що об’єктами досліджень усе частіше стають рослини, мутантні по певних генах. Цьому сприяє створення банків мутантів і можливість прив’язки фізіологічних процесів до конкретних генів. Тому постає питання цілеспрямованої дії фізіологічно активних речовин, мішенями яких можуть бути окремі ділянки хроматину. Однією з таких перспективних речовин є гідразид малеїнової кислоти. Ще одним стимулом для продовження досліджень фізіологічної активності ГМК є його широке застосування у зеленому будівництві та сільському господарстві [13, 14, 15, 88, 90].

Загальна фізико-хімічна характеристика ГМК

Повна хімічна назва гідразиду малеїнової кислоти за номенклатурою IUPAC 6-гідрокси-2*H*-піридазин-3-он чи 1,2-дигідропіридазин-3,6-дион, за номенклатурою CAS 1,2-дигідро-3,6-піридазинедион [80], але препарати на його основі надходять у продаж під різними торговельними назвами: Royal MH30, Royal Slo-Gro, MH 36 Bayer, Pro-San, Regulox 36, Regulox 50 W, Regulox W, Sprout/off, Stuntman, Super-de-sprout, Vondaldehyde, Vondrax [13, 55]. Загальна характеристика, фізико-хімічні властивості й окремі

аспекти фізіологічної дії описані на web-сторінках різних університетів, дослідницьких лабораторій, фірм, в оглядових статтях [1, 44, 55, 80]. Усе це свідчить про значний інтерес до препарату з боку його потенційних споживачів, а також науковців, які працюють в абсолютно різних напрямках. ГМК має вигляд білого кристалічного порошку. Його молекулярна маса дорівнює 112,1, розчинність у воді за кімнатної температури 0,6 г/100 мл. Ця речовина поводить себе як слабка одноосновна кислота (рКа 5,67) і тому утворює з іонами K^+ , Na^+ , NH_4^+ легкорозчинні солі [80]. Саме у такому вигляді ГМК найчастіше застосовується на практиці. Препарати на його основі можуть тривалий час зберігатися за кімнатної температури, не змінюючи своїх властивостей. Вони також є стійкими до УФ променів і нетривалі дії високих температур [80, 90].

Загальна фізіологічна дія

ГМК застосовують шляхом розпорошування водних розчинів його солей над газонами і посівами сільськогосподарських культур. Препарат переважно абсорбується листками, швидко проникає до васкулярної системи і далі транспортується до інших органів і тканин рослини. Його мішенями насамперед стають меристематичні клітини, що призводить до зменшення висоти рослин, пригнічення апікального домінування, редукції кореневої системи [1]. ГМК гальмує перехід трав до генеративної фази розвитку, може спричинити значну перебудову морфології та анатомії рослин і навіть часткову втрату ними зеленого кольору [12]. Але такі драматичні зміни відбуваються у разі інтенсивної обробки препаратом.

У помірних дозах ГМК змінює баланс речовин шляхом посилення одних процесів і зниження інтенсивності інших. У досліджах V. Kalyani et al. [48], проведених на *Salvinia molesta* mitch, після 96 год обробки розчинами з концентраціями 1000 і 5000 ppm спостерігалось зменшення поглинання води, зниження вмісту водорозчинних білків, редуруючих цукрів і амілазної активності при одночасному зростанні кількості хлорофілу й активності протеази та інвертази. Можливість стимулюючого ефекту на ті чи інші процеси відзначається низкою авторів [1, 34, 78, 98]. Так, у концентрації 2×10^{-3} М ГМК стимулював ріст коренів на початкових етапах проростання насіння гороху [1]. Однак вже за 48 год спостерігалось зниження темпів росту на 12,3%, яке через 72 і 96 год становило 19,3 та 25,8% відповідно. У п'ять разів більша концентрація гальмувала ріст коренів від самого початку. Також існують дані, що у концентраціях 0,1 і 1 мг/л ГМК посилює утворення калусу і коренів на відрізках стебла першого міжвузля 15-денних рослин квасолі, стимулює коренеутворення і ріст мезокотила кукурудзи [1]. У 1967 р. була опублікована стаття з результатами досліджень морфогенезу коренів *Phaseolus mungo* після обробки 10^{-4} М ГМК [86]. Препарат стимулював утворення адвентивних коренів на ділянці гіпокотила проростків. Стимуляцію виходу газонних трав зі стану зимового спокою під дією ГМК спостерігав S. M. Wharton [98]. Здатність ГМК сприяти утворенню жіночих квітів у *Momordica charantia* відзначають S. Ghosh і P. S. Basu [34]. Стимуляцію утворення бічних генеративних бруньок у японської груші спостерігали Akiko Ito et al. [45]. Подібні досліді на манго проводили S. Rath і G. C. Das [78]. Після обробки ГМК змінювалася морфологія апікальної меристеми, вона ставала ширшою і коротшою. Це супроводжувалося посиленням утворенням латеральних бруньок за рахунок пригнічення апікального домінування, а зниження інтенсивності вегетативного росту компенсувалося формуванням численних генеративних органів.

У деяких випадках ГМК може не мати помітного впливу. Так, V. Tyagi [94] досліджував утворення гетероцист у синьо-зелених водоростей і не виявив інгібуючого

характеру дії препарату на цей процес. У досліджах Garrard схожість насіння персика *Prunus persica* у дослідних варіантах нічим не різнилася від контролю [33].

Окремо слід зупинитися на впливі ГМК на фотосинтез і процеси дихання. Зазвичай він знижує інтенсивність фотосинтезу [81], зокрема такий ефект на бамбук мав уже 0,001% розчин [54]. Однак у невеликих дозах, за даними Ю. В. Ракітіна [7], ГМК не має негативного впливу на фотосинтез. Щодо дії на інтенсивність дихання, достовірно відомо, що вона знижується [7, 15, 24]. Це пов'язано з падінням активності ряду ферментів циклу трикарбонових кислот [1]. Неузгодженості у результатах різних авторів, які мали місце у перші 30 років дослідження ГМК, обумовлені недосконалістю методик.

Ґрунтовні фізіологічні дослідження *Nicotiana tabacum* L. проводили S. J. Crafts-Brandner et al. [24]. Їх метою було вивчення впливу різних доз ГМК на інтенсивність обміну CO₂, метаболізм карбогідратів і старіння верхньостеблових листків. Листя рослин невдовзі після обробки, з розрахунку 3,36 кг/га, містило від 0 до 600 мкг препарату на 1 г маси сухої речовини. Вивчення розподілу ГМК у рослинах показало, що найбільша його кількість міститься у верхніх листках і з переходом до листків середнього та нижнього ярусів прогресивно знижується. Площа горішніх листків у всіх варіантах зменшувалася, проте їх суха маса залишалася практично однаковою, а питома вага зростала з підвищенням інтенсивності обробки. Обсяг обміну CO₂ протягом 2-х тижнів помітно знижувався. Така ж тенденція спостерігалася і щодо вмісту хлорофілу. Вміст цукрози і крохмалю за цей період різко зростав, сягав свого максимуму у варіанті з найбільшою інтенсивністю обробки. Обмін CO₂ при цьому був на найнижчому рівні. Активності цукрозофосфат синтети та аденозиндифосфатглюкозо-пірофосфорилази не зазнали змін. Інтерпретуючи результати дослідів, автори зазначають, що підвищене накопичення глюкози та крохмалю є результатом зниження інтенсивності транспортних процесів, але не зростання інтенсивності фотосинтезу. Зниження вмісту хлорофілу й інтенсивності обміну CO₂ не призвело до зменшення маси сухої речовини рослин завдяки компенсаторному ефектові листків середньої та нижньої частин стебла, на які ГМК не має такого впливу, як на верхньостеблові листки. Аналогічні результати отримали L. P. Bush і J. L. Sims [17]. Автори проводили обробку окремих листків тютюну радіоактивно міченим CO₂ і з'ясували, що ГМК гальмує розповсюдження мітки по рослині, й це супроводжується зростанням вмісту моноцукрів. Під впливом ГМК також зростає вміст цукрів у листі фруктових дерев [5] і злаків [74]. Однаковий характер змін в обміні карбогідратів у настільки різних об'єктів свідчить про універсальність механізму дії ГМК.

Комплексні дослідження щодо кількісних змін різних класів сполук у тютюну проводили С. Mingwu et al. [61]. Рослини одно- і дворазово оброблялися розчинами ГМК за схемою: 85; 170; 255; 340 мг на рослину та 2x85; 2x170; 2x255 і 2x340 мг на рослину. Результати дворазової та одноразової обробок нічим не різнилися між собою. В усіх варіантах відмічалася підвищення вмісту моноцукрів, кількість K⁺ зростала на 17–34%. Одночасно знижувався вміст Ca²⁺ на 9–16%, Mg²⁺ на 4–16%, фосфору на 3–11%, органічного і неорганічного нітрогену на 8–28% і алкалоїдів на 8–26%. Аналіз алкалоїдів по фракціях виявив, що на фоні зменшення їх загального вмісту окремі сполуки демонструють прямо протилежну тенденцію. Автори відзначають кращу збалансованість водного режиму і підвищення врожайності. Щодо утворення аксіальних флоральних органів, то вони з'являлися поодинокі лише на 21-шу добу після обробки найменшою дозою ГМК і мали гіпотрофований вигляд. Найоптимальнішою дозою ГМК автори вва-

жають 170 мг на рослину. Для цього варіанту обробки була дослідним шляхом отримана формула, яка дозволяє оцінити вміст препарату у тканинах через певні проміжки часу:

$$[\text{ГМК}] = 502 \times N^{-0.84},$$

де [ГМК] – концентрація ГМК у тканинах, мкг на грам маси; N – кількість днів після проведення обробки.

Деякими авторами ГМК розглядається як речовина, що здатна підвищити стійкість рослин до несприятливих факторів навколишнього середовища: низьких [5] і високих [49] температур. Комплексному підходу до використання регуляторів росту присвячений огляд N. Christians [20]. Він вважає ГМК перспективною сполукою і відзначає, що під його впливом зелений колір газону стає більш інтенсивним, зменшуються витрати води на полив, підвищується стійкість до заморозків. Оброблені газони краще за контрольні розвиваються у глибокій тіні. Синергічні суміші ГМК з іншими фізіологічно активними речовинами можуть, на думку автора, стримувати розвиток небажаного на газоні *Poa annua*, і при цьому газонні трави, наприклад *Agrostis palustris*, будуть мати переваги у своєму розвитку, оскільки є менш чутливими до дії ретарданту.

Однією з характерних особливостей ГМК є його висока персистентність. Він дуже повільно включається в метаболічні процеси, які призводять до зміни хімічної структури, що обумовлює його пролонговану дію. Ефективність застосування ГМК визначається не лише концентрацією розчину, але і властивостями тканин, на які спрямована його дія. Вважається, що апікальні меристеми порівняно з інтеркалярними є більш чутливими до ГМК. Насамперед це стосується апікальної меристеми кореня [1].

У зв'язку з можливістю потрапляння залишків ГМК до продуктів харчування проводилися комплексні дослідження рослинних і тваринних організмів на предмет його токсичності, мутагенної активності, канцерогенності [44, 80]. Загально визнано, що у разі нетривалої та неінтенсивної дії ГМК не спричиняє канцерогенних захворювань [80]. У протилежному випадку така небезпека є реальною. Тому в Україні використання ГМК для обробки посівів сільськогосподарського призначення заборонено. В інших країнах ситуація є дещо відмінною. Наприклад, у США вирощування тютюну вважається неможливим без обробки посівів ГМК, різні аспекти застосування якого регулюються федеральним законодавством [80].

Фізіологічна активність ГМК також визначається тим, яка його кількість міститься в тканинах у вільній формі, а яка – у зв'язаній. Більшість молекул ГМК вбудовується до клітинної стінки з утворенням стабільних комплексів з β-D-глюкозидами фенольних сполук [44]. Залишається нез'ясованим, чи може він із них звільнитися, і за яких умов. Необхідно також зазначити можливість утворення комплексів з гуміновими і фульвіновими кислотами, що також знижує фізіологічну активність ГМК [31].

Надходження, транспорт і утилізація

Ефективність дії фізіологічно активних речовин залежить від рівня їх поглинання різними частинами рослин, швидкості та напрямків розповсюдження в організмі, способів утилізації. Ці фактори обумовлюють виникнення градієнтів концентрацій і таким чином відіграють важливу роль у формуванні спектра реакцій відповіді на діючий хімічний фактор.

Результати досліджень поглинання ГМК кореневою системою тютюну і його подальший транспорт у рослинах наведені на web-сторінці www.inchem.org [44]. На

ділянки закритого ґрунту, обробленого розчинами ГМК у кількості 0,2; 0,5; 1 і 5 кг/га, висаджували рослини, які попередньо пророщували у горщиках. Через 8 тижнів вимірювали вміст ГМК у їх листі та в ґрунті. Виявилось, що у ґрунті залишилося 10% від початкової кількості ретарданту, а в молодих листках його не виявлено. Винятком був варіант із застосуванням найбільшої кількості ГМК (5кг/га), коли вміст препарату в листках становив 0,9 мг/кг. Таким чином, внесок кореневої системи у поглинання рослинами ГМК є незначним. Більша його частина поглинається листям. Далі він швидко транспортується по ксилемі та флоемі в усіх напрямках до зон активного росту і через корені частково виділяється у ґрунт. Інша його частина залишається в меристематичних клітинах у вільній формі, а в диференційованих – у вигляді комплексів із поліцукрами та глюкозидами [44, 93]. Зони росту у цьому плані займають проміжне положення [70]. Транспорт ГМК до клітин, що активно проліферують, вивчався ще на початку 70-х років. Зокрема, D. Coupland і A. J. Peel [21] проводили досліди з накопичення препарату в апікальної меристеми коренів *Salix viminalis* L. Подібні дослідження з радіоактивно міченим ГМК проводив S. C. Domir [29] на проростках ільму. ГМК дуже швидко транспортувався в усі органи. Через 21 добу 13% радіоактивної мітки виділилося через корені в поживне середовище. Автор виявив утворення водорозчинних комплексів ГМК з моноцукрами, але більшість радіоактивної мітки залишилася в тканинах у формах, що не екстрагувалися. Дещо відмінні результати отримали С. F. Mischke і S. C. Domir [62] на проростках ясена білого (*Fraxinus alba*). Радіоактивна мітка через одну і 30 діб була виявлена в обох випадках лише у стеблі та місці введення препарату.

У дисертаційній роботі Z. G. Taylor [90] наведено дані з розподілу ГМК у молодих рослинах тютюну. Після одноразової обробки рослин 30–40% ГМК через 28 діб було транспортовано в корені та потім виділилося до поживного субстрату, 12–22% залишилося в тканинах у незв'язаній формі, 14–18% було екстраговано метанолом у комплексі з різними метаболітами і 25–35% залишилося в рослинах як нерозчинна у метанолі фракція.

У зв'язку з використанням високих доз ГМК постає питання про забруднення навколишнього середовища цим препаратом і продуктами його розпаду [75, 80]. Частиці того ГМК, який потрапив до ґрунту, досліджувалися рядом авторів [44]. Було з'ясовано, що рухливість препарату в ґрунті є доволі низькою. Через 129 днів після застосування ГМК у кількостях від 5 до 10,1 кг/га препарат був зосереджений в 10-сантиметровому шарі ґрунту. В інших дослідях ГМК відносно швидко розкладався під впливом ґрунтових мікроорганізмів [40, 80]. Через 4 місяці після обробки полів ретардантом у розрахунку 3,4 кг/га у ґрунті не було виявлено жодних його слідів. Чутливість методу становила 0,5 мг ГМК в 1 кг ґрунту. Половина молекул ГМК розпалася протягом 1–6 тижнів, що залежало від типу ґрунту. Через три місяці реєструвалися тільки його сліди. Досліди з ^{14}C ГМК продемонстрували, що основним продуктом розпаду є CO_2 , а проміжним – імід малеїнової кислоти, що свідчить про розрив зв'язків між обома атомами нітрогену [3, 44]. Однак розкривання кільця з розривом N–N зв'язків не є основним шляхом утилізації ГМК у рослинах, оскільки значна його частина утворює комплекси з природними сполуками. Розпад молекул ГМК у результаті життєдіяльності мікрофлори є лише одним аспектом взаємодії ГМК-ґрунт. Інший аспект полягає в тому, що ретардант може змінювати склад мікрофлори і таким чином опосередковано впливати на рослини [11]. У концентрації 5 ppm препарат стимулював розвиток популяцій грибів, бактерій і актиноміцетів у ризосфері проростків кукурудзи, а за концентрації 1 ppm такий ефект спо-

стерігався тільки для грибів і актиноміцетів. У розведених водних розчинах, за присутності кисню, ГМК підлягає фотоокисленню з утворенням фумарової, малеїнової, лимонної, мурашиної і азотної кислот. У середині клітин цей процес каталізується рибофлавіном [7].

Широке використання ГМК потребує розробки чутливих і швидких методів визначення його вмісту у тканинах рослин, ґрунті, ґрунтових водах, продуктах харчування, цигарках тощо [75, 80]. Обробка полів картоплі за 5 тижнів перед збором врожаю розчинами солей ГМК 0,1; 0,25; 0,5; і 0,75% концентрацій призвела до того, що вміст ретарданту у бульбі становив відповідно 3,1; 15,6; 37,9 і 92,6 мг/кг [44]. Післяпосівна обробка проростків тютюну в обсязі 2,25 кг/га привела до того, що вміст ГМК у листі становив 37 мг на кілограм сирової маси, а в зелених листках, які мали аксіальну апікальну меристему і могли сформувати квіти, він досягав 482 мг/кг [44].

Для ідентифікації ГМК найчастіше використовують спектрофотометричні методи [43] і методи газової хроматографії [79]. Перші засновані на взаємодії з *пара*-диметиламінобензальдегідом [44] і не є достатньо чутливими. Вони дозволяють виявляти ГМК у кількостях 0,5–1 мг/кг. Другі виявляють незв'язаний ГМК після екстракції диметилформамідом або безпосередньо через утворення його комплексу з *N,O*-*bis*-(триметилсиліл) ацетамідом [36]. D. T. Kubilius і R. J. Bushway [53] розробили високочутливий метод визначення вмісту ГМК у картоплі та цибулі за допомогою високоефективної рідинної хроматографії. Для визначення кількості зв'язаного з глюкозидами ГМК використовують іонообмінну хроматографію [66]. Розроблено також метод імуноаналізу з отриманням моноклональних антитіл до самого ГМК [37].

У 90-х роках було розроблено міжнародну програму хімічної безпеки (IPCS), мета якої полягала в розробці науково обґрунтованих технологічних прийомів застосування регуляторів росту, гербіцидів, пестицидів та інших фізіологічно активних речовин для зменшення рівня забруднення навколишнього середовища і запобігання можливому потраплянню цих сполук до питної води і продуктів харчування [83].

Механізм дії

Незважаючи на широкі та різнобічні дослідження фізіологічної активності ГМК, її молекулярні механізми досі залишаються не до кінця з'ясованими, зокрема питання, яким чином структура молекули ГМК визначає його фізіологічну активність. У цьому плані системну роботу на початку 70-х років провели D. Coupland і A. J. Peel [21]. Вони випробували аналоги ГМК, отримані введенням різних функціональних груп до гетероциклу. Найбільшу активність проявляли ті сполуки, у яких залишалася незмінною ділянка – $\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-$. Для інших гідразинових ретардантів відповідальним за їх активність є ланцюжок – $\text{C}-\text{C}-\text{N}-\text{N}-$ [1]. Спроби хімічної модифікації ГМК з метою отримання сполук з підвищеною активністю і селективністю фізіологічної дії зробили також інші автори. У патенті, виданому у 1981 р. O. Hoffmann і N. R. Patel [41], описана фізіологічна активність 1-бензоїл-3-гідрокси-6(1H)-піридазинону, похідної від ГМК сполуки, яка була отримана введенням бензойної кислоти в гетероцикл по першому атому нітрогену. За своєю активністю і характером дії вона мало відрізнялася від ГМК. Вона була взята за основу для подальших модифікацій. До бензольного ядра вводилися функціональні групи: –OH; –CHO; –R; –RO; –Hal. Отримані похідні мали різну фізіологічну активність, яка могла бути вищою, ніж у ГМК. У публікації С. Tomizawa і Н. Kazano [91] повідомлялося про фізіологічну активність піридафентіону, який був синтезований на основі ГМК. Продуктом його гідролізу є *N*-фенілгідрозид малеїнової кислоти.

Основою фізіологічної активності ГМК нині вважається його здатність блокувати перебіг клітинного циклу, викликати хромосомні аберації на пресинтетичній і синтетичній стадіях, конкурувати з урацилом за місце зв'язування в РНК, блокувати синтез ДНК. Тобто основний принцип дії ГМК полягає в тому, що він впливає на функціонування генетичного апарату. Можна припустити, що при цьому змінюється активність певних груп генів за рахунок безпосереднього зв'язування ГМК з ними або з білками хроматину [1, 42]. Про це свідчить те, що у концентрації 10^{-2} М він зупиняв включення ^3H -тимідину в ДНК проліферуючих клітин коренів гороху [1], змінював ступінь метилювання гуаніну ДНК печінки великої рогатої худоби [58]. Здатність до такої дії притаманна цілому ряду похідних гідразину.

Разом з тим, не виключене існування інших шляхів реалізації фізіологічної дії ГМК, які пов'язані зі зміною активності ферментів чи гормонального балансу. Припускається, що він викликає оксигенний стрес [92], який спричиняє мутації і лежить в основі апоптозу. Також були спроби пояснити механізм дії ГМК через подібність структури його молекули до структури фенольних сполук [93], які є природними ретардантами [4].

Мутагенна та кластогенна активність

Вивченню різних аспектів взаємодії ГМК з хроматином присвячені численні роботи [42, 50, 60, 84]. Ще у 1957 р. В. А. Kihlman [50] посилається на раніше опубліковані дослідження, в яких йдеться про спричинення хромосомних аберацій дією ГМК. Разом з тим, Т. Gichner et al. [35] з'ясували, що за умов обробки клітин низькими концентраціями ГМК той може спричинити соматичні мутації без пошкодження структури ДНК. Уже за концентрації $4,5 \times 10^{-5}$ М проявляється цитогенетична активність ГМК, що було показано в досліді на культурі тканин *Crepis capillaries* [47]. Висока мутагенна активність на кінчиках коренів цибулі реєструвалася за концентрації 1×10^{-4} % [77]. Ще менші цифри наводять М. J. Plewa і Е. D. Wagner [76]. У досліді із пилком кукурудзи дослідники виявили мутагену активність ГМК вже за концентрації 1×10^{-9} М. Характер хромосомних аберацій може залежати не лише від концентрації препарату, але і від тривалості його дії. Кластогенний ефект у кінчиках коренів *Allium cepa* під впливом 1×10^{-6} М розчину ГМК спостерігався лише за умов їх обробки понад 12 годин [56]. L. E. R. Flores et al. [32] виявили, що розчин ГМК концентрації 0,005 мг/мл за тривалості дії 24 год приводить до появи мікроядер у традесканції. Такі розбіжності у граничних концентраціях обумовлені властивостями об'єктів і чутливістю методів аналізу. Соматичні мутації під впливом ГМК були предметом досліджень багатьох авторів [9, 35]. За допомогою методу „comet assay“ С. Alvarez-Moya et al. [9] виявили високу частоту їх виникнення через 6–14 діб після обробки 1; 5; 10 мМ розчинами ГМК. У роботі L. Z. Xiao і S. Ichikawa [99] для отримання мутацій також використовувався 1 мМ розчин ГМК, обробка яким тривала 4 години. Появу мутацій пов'язують із двома процесами: індукованою зовнішніми факторами локальною зміною структури ДНК і здатністю клітини усувати ці зміни. Під впливом мутагенів розпочинається незапланований синтез ДНК, який було спричинено активацією репараційної системи [63]. Можливість виникнення мутацій як результату помилок при репарації пошкоджених молекул ДНК була з'ясована ще у 70-х роках ХХ ст. [6]. У цьому плані Н. Nicoloff et al. [67] вивчали спільну дію кофеїну та ГМК. Кофеїн перешкоджає нормальному перебігу репарації. Тому постобробка ним проростків ячменю підвищувала відсоток хромосомних аберацій, спричинених дією ГМК. При цьому була виявлена різна чутливість окремих хромосомних ділянок до потенціювання кофеїном.

Однією зі складових ГМК є молекула гідразину, яка, ймовірно, обумовлює його мутагенну активність. Мутагенез під впливом гідразину вивчається вже давно [46, 51, 58]. Таку активність має і гідроксиламін [2], що обумовлено наявністю у цих сполук атомів нітрогену з неспареною парою електронів [3]. Э. И. Будковский [2] розглядає можливість мутагенів вступати у хімічні реакції не лише з нуклеїновими кислотами, але й з тими продуктами клітинного метаболізму, які є акцепторами неподіленої пари електронів. Унаслідок цього блокується ряд біохімічних шляхів, що призводить до зупинки розвитку клітин. Існує гранична концентрація, перевищення якої спричинює цей ефект, а мутагенна активність проявляється тільки за менших концентрацій. Автор зупиняється на загальних принципах мутагенезу, підкреслюючи, що мутагени, як правило, модифікують азотисті основи у складі полінуклеотидів або їх попередників, що може призвести до блокади матричного синтезу чи до зміни функціональної специфічності. Окрім того, такі зміни впливають на процеси репарації та рекомбінації. Відзначається можливість і перспектива цілеспрямованого мутагенезу за допомогою ряду похідних сполук конкретного мутагену. В дослідях на коренях гороху [83] було продемонстровано, що ГМК спричиняє виникнення значної кількості анеуплоїдів. Подібні результати були отримані J. S. Dhesi et al. [28] на сорго при вивченні перебігу мейозу. Результати роботи цікаві тим, що продемонстрували довготривалу дію ГМК, оскільки обробка ним полягала в попередньому замочуванні насіння перед висадженням у ґрунт.

Існує думка, що сам по собі ГМК не викликає мутацій, а є лише промутагеном, який активується пероксидазою [82, 97]. Досліди в цьому напрямі проводили L. Z. Xiao і S. Ichikawa [99]. Рослини традесканції обробляли етилметансульфонатом і ГМК у різних послідовностях і з різними інтервалами. Хоча обидва препарати, кожен окремо, спричиняли численні соматичні мутації, за умов їх спільної дії мутагенний ефект був виражений значно слабше. Особливо яскраво це проявлялося при обробці ГМК через деякий час після застосування етилметансульфонату. Автори вважають, що останній модифікує пероксидазу оскільки є етилюючим агентом. Це знижує активність ферменту. Разом з тим, припускається існування кількох механізмів, що призводять до антагоністичної дії цих препаратів. В іншій роботі ті ж автори дослідили вплив 1 мМ розчину ГМК на активність пероксидази традесканції [100] і виявили, що вона зростала після такої обробки порівняно з контролем.

Вважається, що ГМК є аналогом азотистих основ і реагує з гетерохроматином [23, 44], спричинюючи аберації саме в цих ділянках хромосом [64, 84]. Таким чином, імовірними мішенями ГМК можуть бути висококонсервативні в еволюційному плані гени, які виконують переважно регуляторні функції.

Можливі шляхи захисту клітин від генотоксичної дії ГМК стали темою низки досліджень [72, 68, 31, 60]. Зокрема, В. Panda et al. [71] вивчали в цьому плані активність антиоксидантів і з'ясували, що всі сполуки, які вони випробували – цистеїн ($2,46 \times 10^{-5}$ М), глутатіон ($9,75 \times 10^{-4}$ М), аскорбінова кислота (1×10^{-2} М), маніт (5×10^{-2} М), йодид калію (5×10^{-2} М), селенат натрію ($1,73 \times 10^{-6}$ М), – мали позитивний ефект, незважаючи на їх різну хімічну структуру. Досліди проводили на корінцях цибулі, які після обробки антиоксидантами підлягали впливу 3×10^{-4} М розчину ГМК. Така схема дослідження пояснюється тим, що деякі синтетичні сполуки за умов пролонгованої дії можуть індукувати оксигенний стрес, наслідком якого є цитогенетичні порушення [92]. На захисну дію селенату натрію, яка посилюється при спільному застосуванні з карбокси-метилцелюлозою, вказують А. de Marco et al. [25]. Протекторну дію мають також солі важких металів, при застосуванні у низьких, нетоксичних концентраціях. До них нале-

жать сполуки міді, свинцю, кадмію [60, 72], ртуті [89]. Це пояснюється утворенням важкорозчинних солей із ГМК. Такі реакції з іонами Ag^+ , Hg_2^{2+} , Hg^{2+} і Tl^+ описані у публікації E. Blasius і M. Laser [16]. В іншій своїй роботі A. de Marco et al. [26] спостерігали захисний ефект від спільної дії гумінових кислот і солей важких металів. Вони вважають, що це обумовлено утворенням комплексних сполук металів і гумінових кислот, які потім вступають у реакцію з ГМК. Натомість, солі алюмінію захисного ефекту не мають [73]. Становить інтерес робота H. Nicoloff et al. [68], у якій авторам вдалося зменшити генотоксичний ефект ГМК, піддаючи проростки *Vicia faba* температурному стресові (10 хв при 40°C). Тривалість такої захисної дії високих температур є короткою і обмежується інтервалом від 10 до 240 хв після зняття стресового фактора.

Геном рослин має три складових. Тому теоретично можна припустити взаємодію ГМК з мітохондріальною і пластидною ДНК. Це питання поки що залишається відкритим. У дослідях, проведених на помідорах, вивчали дію ГМК на рослини, заражені *Agrobacterium tumefaciens* [52]. Обробку розчинами ГМК різних концентрацій проводили за 5 днів до і після інокуляції. Виявилось, що в усіх варіантах динаміка розвитку пухлин залишилася незмінною. Натомість, препарат мав сильний ретардантний ефект на рослини. Таким чином, *A. tumefaciens* був абсолютно нечутливим до дії ГМК. ДНК бактерій не зв'язана з білковими молекулами, як і ДНК мітохондрій. Тому те, що активність бактеріального генома не змінилася під впливом ретарданту, наводить на думку, що відповідальними за зміни активності генів вищих рослин можуть бути комплекси, які утворюються між молекулами ГМК і білками хроматину. Схожість бактеріального генома з пластидним і мітохондріальним дає підстави припускати, що їх ДНК не є мішенями для мутагену. Разом з тим, враховуючи результати J. Veleminsky et al. [96], які полягали в тому, що трансформація клітин тютюну геном *ada E. coli* призводила до збільшення у 2–5 разів частоти мутацій, спричинених ГМК, а також у тому, що елементи пластидного генома можуть транслокуватися до ядерної ДНК, дозволяє зробити припущення про роль останніх у підвищенні чутливості клітин до дії ГМК.

Антиметаболіт урацилу

Найбільш відомою роботою в цьому напрямі є публікація у 1972 р. результатів досліджень впливу ГМК на синтез нуклеїнових кислот, який провів L. D. Nooden [69]. Об'єктами були кінчики коренів кукурудзи і проростків гороху. Виявилось, що блокада синтезу ДНК наставала раніше за блокаду синтезу РНК. Різниця становила 4–8 годин. При цьому спостерігалася вибірковість у зупинці синтезу певних фракцій РНК. У першу чергу і більш виразно гальмувався синтез рибосомальної РНК. Найменш чутливою була фракція транспортних РНК. Автор відзначає тонку селективність у дії ГМК і вважає, що блокада синтезу ДНК не пов'язана з безпосереднім впливом на неї хімікату, а зупинка синтезу рибосомальних РНК спричинена включенням у них ГМК замість урацилу, що зумовлено схожістю їхніх хімічних структур. Хімічні властивості цих молекул порівнювали інші автори [23, 85]. З їхніми результатами не узгоджуються дані, що ГМК в концентрації 2×10^{-3} М, який стимулює ріст коренів гороху при проростанні насіння, підвищує рівень включення ^{14}C -урацилу в РНК на 30% [1]. Однак це спостерігається на 28-му год після замочування насіння, коли клітини ще можуть перебувати у пререплікативному періоді, бо вже за дві години відбувається перехід до зниження швидкості включення міченого урацилу.

Взаємодія з білками й іншими речовинами

На можливість утворення комплексів ГМК з білками непрямо свідчать досліді R. M. Klein, D. T. Klein [52], про які згадувалося вище. Прямим доказом є результати ро-

боти Н. Shibaoka et al. [86], у якій цистеїн вступає у реакцію приєднання з ГМК у розчині. Реакцією між ГМК і цистеїновими залишками амінокислот ферментів пояснюється зниження їх активності [1]. С. Hughes [42] вважає, що ГМК утворює тимчасові комплекси з сульфгідрильними групами білків. При цьому змінюється конформація макромолекул за рахунок розриву старих і утворення нових –S–S– містків. При обробці насіння ячменю метилмеркурій хлоридом значно зменшується кількість білків, що збагачені сульфгідрильними групами [89], і це, на думку авторів, може зумовлювати захисний ефект солі ртуті. Під впливом ГМК настають кількісні та якісні зміни у фракціях білків хроматину, які полягають у зменшенні вмісту фосфорильованих і збагачених лізином гістонів. Імовірно, це робить ДНК доступною до ДНК-ази, активність якої суттєво зростає. Методом електрофорезу було виявлено появу додаткових фракцій ацетильованих пістонів. Подібні модифікації білків змінюють характер їх взаємодії з ДНК, і через цей механізм регулюється матрична активність генома [1]. Ю. В. Ракитин та ін. [7] виявили, що з білками насіння пшениці та кукурудзи, яке почало проростати, зв'язано 12–14% того ГМК, який міститься в рослині. Найбільша кількість із нього припадає на фракцію водорозчинних білків. Дані про інтеграцію молекул ГМК до ділянок гетерохроматину у кінчиках коренів *Allium cepa*, *Vicia faba* і *Tradescantia pallidosa* наведені у публікації J. J. Callaghan і P. Grun [19]. Ще одна реакція між ГМК і функціональними групами білків описана в роботі N. D. Heindel et al. [39]. У ній ідеться про те, що ГМК виступає як гетерофункціональний зв'язуючий агент при утворенні містків між сульфгідрильними і альдегідними групами. Про зв'язування ГМК з β -D-глюкозидами вже згадувалося вище. У листі тютюну 15% ретарданту перебуває у вигляді таких комплексів [44]. Аналогічні результати отримані в досліджах із фруктовими деревами та вербами [44]. Можливість вивільнення ГМК із глюкозидних комплексів за умов *in vivo* припускали ще у 1958 р. G. H. N. Towers et al. [93], які вважали його аналогом фенольних сполук – природних інгібіторів проліферації. Відомо, що β -D-глюкозида *n*-кумарового, синапового, коніферилового спиртів нагромаджуються в камбії і можуть там розщеплюватися під дією β -глюкозидази [4].

Окремо необхідно зупинитися на утворенні комплексів ГМК з гуміновими і фульвіновими кислотами. Їх спільну з ГМК дію на апікальну меристему коренів *Allium cepa* і *Vicia faba* вивчали G. Ferrara et al. [31]. До 0,001% розчину ГМК додавали гумінові або фульвінові кислоти в межах від 50 до 500 мг на літр. У такій концентрації ГМК виявляє кластогенну активність, яка призводить до ненормального перебігу анафази й телофази і супроводжується утворенням численних мікроядер. При обробці проростків сумішню ретарданту з вказаними кислотами подібні аномалії траплялися рідше або взагалі були відсутні, що залежало від концентрації кислот. При цьому гумінові кислоти були дещо ефективнішими для *Allium cepa*. Для *Vicia faba* достовірних відмінностей виявлено не було. Антикластогенна активність гумінових кислот продемонстрована також у роботі R. Cozzi et al. [22]. Ці дослідження мають важливе практичне значення, що підтверджується роботою A. de Marco et al. [26], які з'ясували, що проростки *Vicia faba*, що росли на важких ґрунтах із високим вмістом фульвінових і гумінових кислот, мали найменші пошкодження хромосом. Висловлюється припущення, що ці кислоти поглинаються кореневою системою рослин і далі надходять до меристематичних тканин, де зв'язуються з ГМК і таким чином реалізують свій антимутагенний потенціал.

Дія на ферментативну активність

Про зростання активності пероксидази традесканції під впливом ГМК, що, у свою чергу підвищує мутагенність препарату, повідомили L.Z. Xiao і S. Ichikawa [100].

Є також дані про зростання активності рибонуклеаз листя і коренів соняшника у разі передпосівної обробки насіння розчинами ГМК [1]. Неоднозначними є результати дослідів, проведених на 8-денних проростках тютюну. Через 12 годин після обробки проростків 5×10^{-4} М і 10^{-2} М розчинами ГМК РНК-азна активність у дослідних варіантах становила 96,3 та 103,7% відповідно. Через 24 год ці показники дорівнювали 103,6 та 78,6% [1]. Паралельно визначали активність ДНК-ази. Через 12 год при концентраціях ГМК 5×10^{-4} М і 10^{-2} М вона дорівнювала 113,6 та 186,4%. Через 24 год активність ферменту зросла до 158,3 та 233,3%. Зменшення вмісту ДНК автори пояснюють зростанням активності ДНК-ази і її зниженням для ДНК-полімерази. Чим більша концентрація розчину ГМК, тим виразнішими є ці зміни. Існують протиріччя щодо впливу ГМК на активність оксидази індолілоцтової кислоти [1] й інших ензимів. На суттєві зміни активності ферментів вуглеводно-фосфорного обміну вказують Ю. В. Ракитин та ін. [7]. Це призводить до дисбалансу різних фракцій фосфорних сполук у бульбі. Разом з тим, активності цукрозофосфат синтетази і аденозиндифосфатглюкозопірофосфорилази тютюну не змінювалися [24]. Завжди змінюється активність деяких ферментів циклу Кребса, а саме дегідрогеназ фумарової, бурштинової та піровиноградної кислот [1]. Це пояснюється реакцією їх цистеїнових залишків з ГМК. Про підвищення активності протеази й інвертази повідомляли V. Kalyani et al. [48]. Загалом ГМК знижує активності тих ферментів, активація яких пов'язана з $-SH$ групами [42]. Як приклад автор наводить фосфорилазу крохмалю.

Вплив на гормональний баланс

Ще у 1958 р. було з'ясовано, що в умовах *in vitro* ГМК пришвидшує руйнування молекул індолілоцтової кислоти (ІОК) [93] і в цьому плані є подібним до фенольних сполук, які беруть участь в утилізації ауксину. Трохи раніше зниження вмісту ауксину в оливкових деревах після їх обробки 1% розчином ГМК зареєстрував Н. Т. Hartmann [38]. Це підтвердилося даними про гальмування ГМК транспорту ауксинів [7]. Така дія ретарданту знімалася доданням урацилу чи рибофлавіну. Спроби вплинути на метаболізм гіберелінів через дію ГМК не принесли жодних результатів. У колективній монографії [1] наведено результати дослідів, у яких пригнічуюча дія високих концентрацій ІОК знімалася обробкою тканин ГМК. Це пояснюється тим, що ГМК активує пероксидазу і оксидазу ІОК. Однак у монографії є також посилання на роботи, у яких ГМК не справляв жодного впливу на активність оксидази ІОК. Спроби зняти блокаду проліферативної активності в апікальній меристемі коренів *Allium cepa*, що викликана дією ГМК за допомогою гібереллової кислоти, 6-фурфуриламінопурину (кінетину) й ІОК були негативними [59]. Це є свідченням того, що ГМК не діє через зміну гормонального балансу рослин.

Використання на практиці

Найчастіше ГМК використовують для запобігання переростанню газонів. Це зменшує витрати, пов'язані з їх утриманням, оскільки відпадає потреба у частих скошуваннях [95]. Економічні аспекти застосування ГМК і регуляторів росту загалом обговорюються в ряді публікацій [13, 14, 95]. При цьому доводиться розв'язувати питання кількості обробок протягом сезону, вибору стадії розвитку рослин, на якій краще застосовувати ретардант, видової чутливості до нього різних складових газону. Цим проблемам присвячена значна кількість публікацій [12, 57, 74, 88]. Зазвичай ГМК ефективно обмежує ріст усіх компонентів газону і запобігає їх колосінню [57]. Це супроводжується ще сильнішим пригніченням розвитку дводольних, що відкриває перспективи застосування ретарданту для боротьби з бур'янами в посівах злакових [18].

ГМК може використовуватися для стимуляції виходу газонних трав зі стану зимового спокою. Так, D. R. Spak et al. [85] обробляли наприкінці березня ділянки з *Festuca arundinacea* Schreb. водним розчином ГМК у розрахунку 4,48 кг на гектар. Спостереження проводили через 3, 6, 10, 14, 19 і 31 тиждень після обробки. Через 10 тижнів 75% апікальних меристем перебували у стані глибокої репресії. Тим не менш, густина трав'яного покриву не зменшилася завдяки інтенсивному розвитку аксіальних бруньок, який почався через 2 тижні після обробки газону. ГМК надав поштовх швидким ростовим процесам, які настали після тотального пригнічення росту. Це відбувалося за рахунок виникнення нових апікальних меристем та інтенсивного функціонування тих 25% апексів, які не втратили повністю своєї функціональності. Автори також зареєстрували зниження загального вмісту неструктурних вуглеводів у період від 4-го до 6-го тижня після обробки. Економічні аспекти застосування ГМК, а також зміни у властивостях газонів (посилення зеленого кольору, кращий розвиток кореневої системи, зменшення інтенсивності транспірації та інші) після обробки ретардантом обговорюються в огляді A. Beggs [14].

Разом з тим, існують повідомлення про негативний вплив ГМК на зовнішній вигляд газону [88] і зниження його стійкості до збудників хвороб [74]. J. R. Street [88] радить не використовувати ГМК восени, оскільки у цю пору він спричиняє максимальні ушкодження. Однак ГМК можна ефективно застосовувати в суміші з хлорфлуренолом навесні для запобігання колосінню. Незважаючи на ефективність ГМК при обробці газонів, у перший тиждень може спостерігатися різка активація росту. Тому S. M. Batten [13] радить за 7–10 днів після обробки проводити скошування газону, але виключно поверхневе, оскільки в протилежному випадку це негативно відіб'ється на фізіологічному стані газонних трав. Суттєві пошкодження трави можуть бути спричинені в разі застосування ГМК за дві доби до чи після скошування. Тобто ці два заходи мають бути рознесені в часі не менше ніж на 7–10 діб. Про зменшення насиченості кольору газону після обробки ГМК повідомлялося R. D. Baker et al. [12]. Для уникнення небажаних наслідків обробки ретардантом необхідно враховувати численні місцеві фактори, мікрокліматичні умови тощо [90].

ГМК використовують не лише для утримання газонів. Рекомендації про його застосування для надання декоративності деревним породам при садово-парковому будівництві можна знайти на відповідних сайтах і в інших джерелах [30, 80]. Препарат використовується також для запобігання проростанню бульби і цибулі при їх зберіганні [15, 44, 80]. При цьому обробка рослин картоплі проводиться за 4–6 тижнів до збору врожаю з розрахунку 2–3 кг/га, а цибулі – за 2–4 тижні у розрахунку 2–2,5 кг/га. Цитрусові дерева обробляють для індукції зимового спокою, посіви тютюну з метою контролю за аксілярним ростом [44, 80, 90] у кількості до 3 кг/га, що приводить до збільшення кількості листків і поліпшення фракційного складу алкалоїдів. За допомогою ГМК збільшують кількість квітів на мангових деревах у ті роки, коли вони не дають інтенсивного квітування [78]. В Індії широко застосовують препарати на основі ГМК для боротьби з бур'янами у розрахунку 8,3 кг/га [10]. Н. Т. Hartmann [38] використовував 1% розчин ГМК при зборі олив. Після такої обробки плоди опадали від найменшого струсу гілок. При цьому частково втрачалися і листки. Однак їх відсоток був незначним і це стосувалося тільки старого листа. Такий ефект ГМК пов'язаний зі зміною структури тонкого шару клітин між плодоніжкою і гілкою. При цьому не спостерігалось пошкодження структури листків та інших органів. У 2002 р. в США була запате-

нтована технологія боротьби з бур'янами в посівах рису, сої, кукурудзи, цукрового буряку і томатів зі спільним використанням гербіцидів на основі суміші жирних кислот і ГМК [85]. Додавання ГМК значно підвищувало ефективність гербіцидів. Існують дані про підвищення стійкості рослин тютюну до тлі, а також загибель заразики у разі обробки ГМК [8].

Значна кількість публікацій і незгасаючий інтерес до ГМК свідчать про його перспективність для практики зеленого будівництва та сільського господарства. З розвитком біології, з удосконаленням лабораторних методів відкриваються нові можливості вивчення його фізіологічної активності й використання в біотехнології. Це проведення дослідів на мутантних рослинах, регуляція генетичної активності, проліферації та диференціації клітин. Створення нових фізіологічно активних речовин на основі молекули ГМК дозволить проводити роботи зі спрямованого мутагенезу. Таким чином, якщо ГМК вже тривалий час застосовується в польових умовах, то тепер починають відкриватися нові перспективи його використання, пов'язані з технікою культури тканин. Поглиблення знань про загальнофізіологічну дію ГМК сприяє більш ефективному використанню його в польових умовах. Це розробка препаратів для підвищення морозостійкості рослин, синергічних сумішей для запобігання переростанню газонів, боротьби з бур'янами, підвищення стійкості до збудників хвороб і несприятливих факторів навколишнього середовища. Ще один напрям робіт з практичного застосування ГМК пов'язаний із його пролонгованою дією, що могло би дозволити обробляти не дорослі рослини, а їх насіння в контрольованих умовах.

1. *Калинин Ф. Л., Троян В. М., Махно А. Н.* и др. Биохимия регуляции онтогенеза растительной клетки. К.: Наук. думка, 1983. 268 с.
2. *Будовский Э. И.* Механизм мутагенного действия гидроксилamina // Молекулярные основы генетических процессов. М.: Наука, 1981. С. 115–127.
3. *Гауптман З., Грефе Ю., Ремане Х.* Органическая химия. М.: Химия, 1979, 832 с.
4. *Гудвин Т., Мерсер Э.* Введение в биохимию растений // М.: Мир, 1986. Т. 1. 392 с.
5. *Деева В. П., Шелег З. И., Санько Н. В.* Избирательное действие химических регуляторов роста на растения // Минск: Наука и техника, 1988. 253 с.
6. *Като Т., Шиноура Ю.* Генетический контроль индуцибельного мутагенного пути репарации у *E. coli* // Молекулярные основы генетических процессов. М.: Наука, 1981. С. 106–114.
7. *Ракитин Ю. В., Новолоцкая К. Л., Ге́йден Т. М.* и др. Природа ингибирующего действия гидразида малеиновой кислоты на рост растений // Физиология растений. 1971. Т. 18. С. 608–613.
8. *Гамбург К. З., Кулаева О. Н., Муромцев Г. С.* и др. Регуляторы роста растений. М.: Колос, 1979. 247 с.
9. *Alvarez-Moya C., Santerre-Lucas A., Zúñiga-González G.* et al. Evaluation of genotoxic activity of maleic hydrazide, ethyl methane sulfonate, and N-nitroso diethylamine in *Tradescantia* // Salud pública Méx. 2001. Vol. 43. N 6. P. 563–569.
10. *Ambika S. R.* Additional methods to control *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson // *Chromolaena odorata*. Biological control. 2006. <http://www.ehs.cdu.edu.au/chromolaena/proceedings/fourth/ambika2.htm>.
11. *Anilkumar T. B., Chakravarti B. P.* Changes in the rhizosphere microflora of maize seedlings by pretreatment of roots with hormones and urea // Plant and Soil. 1970. Vol. 33. N 1. P. 679–684.

12. *Baker R. D., McCarty L. B., Colvin D. L.* et al. Bahiagrass (*Paspalum notatum*) seedhead suppression following consecutive yearly applications of plant growth retardants // *Weed Technology*. 1999. Vol. 13. N 2. P. 378–384.
13. *Batten S. M.* Growth regulators – new tools for the '80s? // *USGA Green Section Record*. 1983. Vol. 21. N 3. P. 1–3.
14. *Beggs A.* Special report: Plant growth regulators: What does the future hold? // *International Turfgrass Bulletin*. 2002. Vol. 216. P. 5–6.
15. *Benkeblia Nouredine.* Effect of maleic hydrazide on respiratory parameters of stored onion bulbs (*Allium cepa* L.) // *Braz. J. Plant. Physiol.* 2004. Vol. 16. N 1. P. 47–52.
16. *Blasius E., Laser M.* Chelatbildende austauscherharze III. Selektive und spezifische ionenaustauscher auf hydrazidbasis // *J. Chromatography A*. 1963. Vol. 11. P. 84–92.
17. *Bush L., Sims J.* Morphological and physiological effects of maleic hydrazide on tobacco // *Physiol. Plant.* 1974. Vol. 32. P. 157–160.
18. *Calhoun R. N., Hathaway A. D.* Weeds, weed control and PGRs: I. Best management practices for weed control in lawn cut turf // *75th Annual Michigan Turfgrass Conference Proceedings*. January 17–20, Lansing, MI. 2005. Vol. 75. P. 1.
19. *Callaghan J. J., Grun P.* Incorporation of ¹⁴C labeled maleic hydrazide into root-tip cells of *Allium cerassum*, *Vicia faba* and *Tradescantia paludosa* // *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1961. Vol. 10. P. 567–575.
20. *Christians N.* Creative uses for plant growth regulators: They offer more advantages than growth reduction // *USGA Green Section Record*. 2001. Vol. 39. N 5. P. 11–13.
21. *Coupland D., Peel A. J.* Uptake of maleic hydrazide and related compounds into willow. A comparison between molecular structure and biological activity // *Planta*. 1972. Vol. 105. N 1. P. 66–70.
22. *Cozzi R., Nicolai M., Perticone P.* et al. Desmutagenic activity of natural humic acids: inhibition of mitomycin C and maleic hydrazide mutagenicity // *Mutat. Res.* 1993. Vol. 299. Issue 1. P. 37–44.
23. *Cradwick P. D.* Is maleic hydrazide a pyrimidine or purine analogue? // *Nature*. 1975. Vol. 258. N 5537. P. 774.
24. *Crafts-Brandner S. J., Sutton T. G.* Effect of maleic hydrazide on photosynthesis, carbohydrate metabolism, and senescence of burley tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) // *Field Crops Research*. 1994. Vol. 37. Issue 2. P. 129–135.
25. *De Marco A., Owczarek M., Ferri T.* et al. Carboxymethylcellulose improves the antimutagenic activity of sodium selenite against maleic hydrazide in *Vicia faba* seedlings // *Environ. Res.* 2002. Vol. 90. N 2. P. 152–156.
26. *De Marco A., de Simone C., Raglione M.* et al. Influence of soil characteristics on the clastogenic activity of maleic hydrazide in root tips of *Vicia faba* // *Mutat. Res./Gen. Toxic.* 1995. Vol. 344. Issue 1–2. P. 5–12.
27. *Deysson G., Rollen A.* Antimitotic effect of maleic hydrazide // *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* 1951. Vol. 233. N 15. P. 820–821.
28. *Dhesi J. S., Sandhu S. S., Waters M. D.* Meiotic behaviour of platinum-induced aneuploids in pearl millet // *J. Heredity*. 1983. Vol. 74. N 3. P. 189–192.
29. *Domir S. C.* Fate of [¹⁴C] daminozide and [¹⁴C] maleic hydrazide in American elm (*Ulmus americana* L.) // *Pesticide Science*. 1960. Vol. 11. Issue 4. P. 418–422.
30. *Domir S. C., Wuertz D. E.* Retardation of tree growth by injection of plant growth regulators // *Plant Growth Regulation*. 1982. Vol. 1. N 2. P. 85–92.

31. Ferrara G., Loffredo E., Senesi N. Aquatic humic substances inhibit clastogenic events in germinating seeds of herbaceous plants // J. Agric. Food Chem. 2001. Vol. 49. N 3. P. 1652–1657.
32. Flores L. E. R., Madrigal-Bujaidar E., Salazar M. et al. Anticlastogenic effect of *Spirulina maxima* extract on the micronuclei induced by maleic hydrazide in *Tradescantia* // Life Sciences. 2003. Vol. 72. Issue 12. P. 1345–1351.
33. Garrard L. A., Biggs R. H. A study of thioamide-induced germination of seeds of *Prunus persica* // Phytochem. 1966. Vol. 5. Issue 1. P. 103–110.
34. Ghosh S., Basu P. S. Effect of some growth regulators on sex expression of *Momordica charantia* L. // Scientia Horticulturae. 1982. Vol. 17. Issue 2. P. 107–112.
35. Gichner T., Menke M., Stavreva D. A. et al. Maleic hydrazide induces genotoxic effects but no DNA damage detectable by the Comet assay in tobacco and field beans // Mutagenesis. 2000. Vol. 15. N 5. P. 385–389.
36. Haebeler A. F., Schlotzhauer W. S., Chortyk O. T. A rapid quantitative method for maleic hydrazide // J. Agric. Food Chem. 1974. Vol. 22. P. 328–330.
37. Harrison R. O., Nelson J. O. Analysis of maleic hydrazide in potatoes by competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay // Food Chem. 1990. Vol. 38. Issue 3. P. 221–223.
38. Hartmann H. T. Induction of Abscission of Olive Fruits by Maleic Hydrazide // Botanical Gazette. 1955. Vol. 117. N 1. P. 24–28.
39. Heindel N. D., Zhao H. R., Egolf R. A. et al. A novel heterobifunctional linker for formyl to thiol coupling // Bioconjug Chem. 1991. Vol. 2. N 6. P. 427–430.
40. Helweg A. ¹⁴C-labelled maleic hydrazide degradation in soil: Influence of temperature, moisture, clay and organic material // Soil Biol. and Biochem. 1981. Vol. 13. Issue 5. P. 401–407.
41. Hoffmann O. L., Patel N. R. 1-Benzoyl-3-hydroxy-6(1H)-pyridazinones and use as plant growth regulators // USA patent 4256884. Accepted 13 March 1980; Printed 17 March 1981. <http://www.freepatentsonline.com/4256884.html>.
42. Hughes C., Spragg S. P. The inhibition of mitosis by the reaction of maleic hydrazide with sulphhydryl groups // Biochem. J. 1958. Vol. 70. N 2. P. 205–212.
43. Ihnat M., Thompson B. Collaborative study of a spectrophotometric method for determining maleic hydrazide residues in tobacco and vegetables // J. Assoc. of Anal. Chem. 1975. Vol. 58. N 6. P. 1235–1243.
44. Inchem.org // www.inchem.org/.../jmpr/jmpmono/v076pr16.htm. 2007.
45. Ito A., Hayama H., Kashimura Y. et al. Effect of maleic hydrazide on endogenous cytokinin contents in lateral buds, and its possible role in flower bud formation on the Japanese pear shoot // Scientia Horticulturae. 2001. Vol. 87. Issue 3. P. 199–205.
46. Kak S. N., Kaul B. L. Mutagenic activity of hydrazine and its combinations with maleic hydrazide and X-rays in barley // Cytobios. 1975. Vol. 12. N 46. P. 123–128.
47. Kallak H. I., Vapper M. A. Plant tissue culture as a model system for mutagenicity testing of chemicals // Mutat. Res./Env. Mutagen. and Related Subjects. 1985. Vol. 147. Issue 1–2. P. 51–57.
48. Kalyani V., Kathiresan K., Gnanarethinam J. L. Maleic hydrazide induced changes in the physiology of *Salvinia molesta* mitch // Aquatic Botany. 1985. Vol. 21. Issue 2. P. 195–200.
49. Kauffman G. L., Watschke T. L., Knievel D. P. Plant growth regulator assessment of macro-sorb foliar and its impact on the photosynthetic efficiency of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) exposed to heat stress // 2003 Turfgrass Research Report. 2003. P. 68–73.
50. Kihlman B. A. Experimentally induced chromosome aberrations in plants: the production of chromosome aberrations by cyanide and other heavy metal complexing agents // J. Cell Biol. 1957. Vol. 3. P. 363–380.

51. *Kimball R. F.* The mutagenicity of hydrazine and some of its derivatives // *Mutat. Res./Reviews in Gen. Toxic.* 1977. Vol. 39. Issue 2. P. 111–126.
52. *Klein R. M., Klein D. T.* Effects of maleic hydrazide on initiation and development of tomato crown-gall tumors // *American J. of Botany.* 1952. Vol. 39. N 10. P. 727–730.
53. *Kubilius D. T., Bushway R. J.* Determination of maleic hydrazide in potatoes and onions by fluorescence high performance liquid chromatography // *J. of Liquid Chromatography & Related Technologies.* 1999. Vol. 22. Issue 4. P. 593–601.
54. *Kumar R., Pal M.* Growth and proliferation of bamboo (*Dendrocalamus strictus* Roxb.) seedlings influenced by various growth regulators // *J. of Bamboo and Rattan.* 2004. Vol. 3. N 2. P. 91–97.
55. Maleic hydrazide - Identification, toxicity, use, water pollution potential, ecological toxicity and regulatory information. 2007. http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC35106.
56. *Marcano L., Carruyo I., Campo A.* et al. Cytotoxicity and mode of action of maleic hydrazide in root tips of *Allium cepa* L. // *Environ. Res.* 2004. Vol. 94. N 2. P. 221–226.
57. *Marshall E. J. P.* Some effects of annual applications of three growth-retarding compounds on the composition and growth of a pasture sward // *J. Applied Ecol.* 1988. Vol. 25. N 2. P. 619–630.
58. *Mathison B. H., Murphy S. E., Shank R. C.* Hydralazine and other hydrazine derivatives and the formation of DNA adducts // *Toxic. and Appl. Pharm.* 1994. Vol. 127. Issue 1. P. 91–98.
59. *Mcmanus M. A.* Certain mitotic effects of kinetin, gibberellic acid, indoleacetic acid, and maleic hydrazide on the root of *Allium cepa* // *Nature.* 1960. Vol. 185. P. 44–45.
60. *Michaelis A., Rieger R.* Inhibition of protein synthesis by cycloheximide does not prevent adaptive responses triggered by heavy metal salts in *Vicia faba* // *Mutat. Res.* 1993. Vol. 302. Issue 3. P. 157–160.
61. *Mingwu C., Burton H. R., Bush L. P.* et al. Effects of application methods and rates of maleic tobacco hydrazide on the composition of burley tobacco // *Tob. Sci.* 1995. Vol. 39. P. 9–17.
62. *Mischke C. F., Domir S. C.* A study of the fate of [¹⁴C] maleic hydrazide in white ash and black locust seedlings by high-performance liquid chromatography // *Pesticide Science.* 1962. Vol. 13. Issue 3. P. 304–308.
63. *Murin G.* Unscheduled DNA synthesis in growing roots and stored embryos of *Vicia faba* after the action of maleic hydrazide and methyl methanesulphonate // *Mutat. Res.* 1990. Vol. 245. N 2. P. 83–86.
64. *Natarajan A. T., Ahnström G.* Heterochromatin and chromosome aberrations // *Chromosoma.* 1969. Vol. 28. N 1. P. 48–61.
65. *Naylor A. W.* Accumulation of sucrose in maize following treatment with maleic hydrazide // *Arch. Biochem.* 1951. Vol. 33. N 2. P. 341–342.
66. *Newsome W. H.* A method for the determination of maleic hydrazide and its beta-D-glucoside in foods by high-pressure anion-exchange liquid chromatography // *J. Agric. Food Chem.* 1980. Vol. 28. N 2. P. 270–272.
67. *Nicoloff H., Gecheff K., Stoilov L.* Effects of caffeine on the frequencies and location of chemically induced chromatid aberrations in barley // *Mutat. Res./Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagen.* 1980. Vol. 70. Issue 2. P. 193–201.
68. *Nicoloff H., Rieger R., Michaelis A.* Effects of novobiocin on heat shock protection against chromatid aberration induction by triethylenemelamine (TEM) and maleic hydrazide (MH) in *Vicia faba* // *Mutat. Res. Letters.* 1988. Vol. 208. Issues 3–4. P. 173–178.

69. *Nooden L. D.* Inhibition of nucleic acid synthesis by maleic hydrazide // *Plant and Cell Physiology*. 1972. Vol. 13. N 4. P. 609–621.
70. *Nooden L. D.* Metabolism and binding of ^{14}C -maleic hydrazide // *Plant Physiol.* 1970. Vol. 45. N 1. P. 46–52.
71. *Panda B. B., Subhadra A. V., Panda K. K.* Prophylaxis of antioxidants against the genotoxicity of methyl mercuric chloride and maleic hydrazide in *Allium micronucleus* assay // *Mutat. Res.* 1995. Vol. 343. N 2–3. P. 75–84.
72. *Panda K. K., Patra J., Panda B. B.* Persistence of cadmium-induced adaptive response to genotoxicity of maleic hydrazide and methyl mercuric chloride in root meristem cells of *Allium cepa* L.: Differential inhibition by cycloheximide and buthionine sulfoximine // *Mutat. Res./Gen. Toxic. and Env. Mutagen.* 1997. Vol. 389. Issue 2–3. P. 129–139.
73. *Patra J., Baisakhi B., Mohapatro M. K.* et al. Aluminium triggers genotoxic adaptation to methyl mercuric chloride and ethyl methane sulfonate, but not to maleic hydrazide in plant cells in vivo // *Mutat. Res./Gen. Toxic. and Env. Mutagen.* 2000. Vol. 465. Issue 1–2. P. 1–9.
74. *Pennucci A.* A physiologic basis for enhanced pathogenicity in turfgrass treated with plant growth retardants // *Phytopathology*. 1987. Vol. 77. N 1. P. 121.
75. Pesticides on tobacco. Federal activities to assess risks and monitor residues // United States General Accounting Office. Washington, DC 20548. 2003. 44 p.
76. *Plewa M. J., Wagner E. D.* Germinal cell mutagenesis in specially designed maize genotypes // *Environ. Health Perspect.* 1981. Vol. 37. P. 61–73.
77. *Rank J., Nielsen M.* *Allium cepa* anaphase-telophase root tip chromosome aberration assay on N-methyl-N-nitrosourea, maleic hydrazide, sodium azide, and ethyl methane-sulfonate // *Mutat. Res.* 1997. Vol. 390. Issue 1–2. P. 121–127.
78. *Rath S., Das G. C.* Effect of ringing and growth retardants on growth and flowering of mango // *Scientia Horticulturae*. 1979. Vol. 10. Issue 1. P. 101–104.
79. *Renaud J. M., Keller I., Vuillaume G.* Determination of maleic hydrazide residues in cured tobacco by gas chromatography // *J. Chromatogr.* 1992. Vol. 604. N 2. P. 243–246.
80. Reregistration Eligibility Decision (RED). Maleic Hydrazide // United States Environmental Protection Agency. Washington, D.C. 20460. 1994. 212 p.
81. *Roberts B. R., Domir S. C.* The influence of daminozide and maleic hydrazide on growth and net photosynthesis of silver maple and American sycamore seedlings // *Scientia Horticulturae*. 1983. Vol. 19. Issue 3–4. P. 367–372.
82. *Sandermann H.* Mutagenic activation of xenobiotics by plant enzymes // *Mutat. Res./Gen. Toxic. and Env. Mutagen.* 1988. Vol. 197. Issue 2. P. 183–194.
83. *Sandhu S. S., Acedo G. N.* Detection of chemically induced aneuploidy by the *Vicia faba* root tip assay // *Toxicol. and Health*. 1988. Vol. 4. N 2. P. 257–267.
84. *Schubert I., Rieger R.* Sister chromatid exchanges and heterochromatin // *Human Genetics*. 1981. Vol. 57. N 2. P. 119–130.
85. *Spak D. R., DiPaola J. M., Lewis W. M.* et al. Tall fescue sward dynamics: II. Influence of four plant growth regulators // *Crop Science*. 1993. Vol. 33. N 2. P. 304–310.
86. *Street J. R.* Growth regulators for turf-selection and use // *American Lawnapplicator*. March/April 1984. P. 6–10.
87. *Subhadra A. V., Panda B. B.* Metal-induced genotoxic adaptation in Barley (*Hordeum vulgare* L.) to maleic hydrazide and methyl mercuric chloride // *Mutat. Res./Gen. Toxic.* 1994. Vol. 321. Issue 1–2. P. 93–102.

88. Tomizawa C., Kazano H. Environmental fate of rice paddy pesticides in a model ecosystem // J. Environ. Sci. Health. B. 1979. Vol. 14. N 2. P. 121–152.
89. Tope A., Bebe F. N., Panemangalore M. Micronuclei frequency in lymphocytes and antioxidants in the blood of traditional limited-resource farm workers exposed to pesticides // J. Environ. Sci. Health. 2006. Vol. 41. Issue 6. P. 843–853.
90. Towers G. H., Hutchinson A., Andreae W. A. Formation of a glucoside of maleic hydrazide in plants // Nature. 1958. Vol. 181. P. 1535–1536.
91. Tyagi V. V. S. Effects of some metabolic inhibitors on heterocyst formation in the blue-green alga, *Anabaena doliolum* // Annals of Botany. 1973. Vol. 37. P. 361–368.
92. Van Veen-Hincke K. Regulate your workload with PGRs // Lawn and Landscape. 2006. Vol. 27. N 2. P. 130, 132–134, 136, 138, 140.
93. Veleminsky J., Angelis K., Baburek I. et al. An escherichia-coli ada transgenic clone of nicotiana-tabacum var xanthi has increased sensitivity to the mutagenic action of alkylating -agents, maleic hydrazide and gamma-rays // Mutat. Res. 1994. Vol. 307. N1. P. 193–200.
94. Veleminsky J., Gichner T. Mutagenic activity of promutagens in plants: indirect evidence of their activation // Mutat. Res./Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagen. 1988. Vol. 197. Issue 2. P. 221–242.
95. Wharton S. M. Overseeded bermudagrass fairway performance and post dormancy transition as influenced by winter overseeding practices and trinexapac-ethyl // Thesis for the Degree of Doctor of Science. Blacksburg, VA. 1999. 158p. <http://scholar.lib.vt.edu/theses/available/etd-121799-115556/unrestricted>.
96. Xiao L. Z., Ichikawa S. Antagonistic effects of ethyl methanesulfonate and maleic hydrazide in inducing somatic mutations in the stamen hairs of *Tradescantia* clone BNL 4430 // Mutat. Res. 1998. Vol.16. N2. P. 177-186.
97. Xiao L.Z., Ichikawa S. Peroxidase activities in the floral tissues of *Tradescantia* clone BNL 4430 treated with maleic hydrazide alone, X rays alone, or in combinations // Japanese j. genetics. 1996. Vol.71. P. 151–159. <http://www.cib.nig.ac.jp/GGS/Vol-71/71-3-3.html>.

MALEIC HYDRAZIDE – THE PLANT GROSS REGULATOR OF THE WIDE RANGE OF ACTION

I. Tikhankov

*Dnipropetrovsk National University
13, Naukova St., Dnipropetrovsk 49050, Ukraine
e-mail: 24traven@ukr.net*

Some aspects of the physiological activity of maleic hydrazide after its application to higher plants have been examined. A great deal of attention have been devoted to the mechanisms of his activity, mutagenic and clastogenic activity. The interaction of this plant gross regulator with other molecules have been examined as good as his impactation at the enzymatic activity and hormonal balance. The problems and perspectives of the using of this chemical have been overviewed so.

Key words: maleic hydrazide, mutagen, plant gross regulator, retardant, physiologically active matter.

Стаття надійшла до редколегії 11.03.08

Прийнята до друку 28.03.08