

УДК 632.95

UDC 632.95

06.00.00 Сельскохозяйственные науки

Agricultural sciences

**ПОИСК НОВЫХ
ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ САХАРНОЙ
СВЁКЛЫ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ
ПИРИДИЛГИДРАЗОНОВ**

**THE SEARCH FOR NEW SUGAR BEET
IMMUNOMODULATORS AMONG
PYRIDYLHYDRAZONE DERIVATIVES**

Дядюченко Людмила Всеволодовна
к.х.н., доцент
РИНЦ SPIN-код 1135-3336
ludm.dyadiuchenko@yandex.ru

Dyadyuchenko Lyudmila Vsevolodovna
Cand. Chem. Sci, associate professor
SPIN-code 1135-3336
ludm.dyadiuchenko@yandex.ru

Назаренко Дарья Юрьевна
РИНЦ SPIN-код 8278-0942
danazarenko@yandex.ru

Nazarenko Daria Yurievna
SPIN- code 8278-0942
danazarenko@yandex.ru

Ткач Лидия Никифоровна
Научный сотрудник
tkach.lid@yandex.ru
*Всероссийский научно-исследовательский
институт биологической защиты растений,
Краснодар, Россия*

Tkach Lidiya Nikiphorovna
research associate
tkach.lid@yandex.ru
*All-Russian Research Institute of Biological Plant
Protection, Krasnodar, Russia.*

Тосунов Янис Константинович
к.х.н., доцент
tosunyanis@yandex.ru

Тосунов Янис Константинович
Cand. Agr. Sci, associate professor
tosunyanis@yandex.ru

Дмитриева Ирина Геннадиевна
к.х.н., доцент
РИНЦ SPIN-код 6882-9695
irina.bona.mente@gmail.com
*Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Dmitrieva Irina Gennadievna
Cand. Chem. Sci, associate professor
SPIN-code 6882-9695
irina.bona.mente@gmail.com
*Kuban State Agrarian University, Krasnodar,
Russia.*

С целью поиска веществ, повышающих устойчивость сахарной свеклы к негативному воздействию гербицидов, синтезирован ряд производных пиридилгидразонов. Изучено защитное действие новых соединений по отношению к смеси гербицидов Бетанала, Лонтрела и Зелек Супер в полевых условиях. Исследовано влияние пиридилгидразонов на синтез фотосинтетических пигментов в листьях растений. Найдены вещества с высоким защитным эффектом

In order to find compounds that increase sugar beet resistance to the adverse effects of herbicides, a series of pyridylhydrazone derivatives have been synthesized. The protective effect of new compounds for the herbicide mixture Betanal, Lontrel and Super Zeleke was studied in field conditions. The effect of pyridylhydrazones on the synthesis of photosynthetic pigments in leaves was investigated. Substances with a high protective effect were found

Ключевые слова: ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ, ПИРАЗОЛОПИРИДИНЫ, САХАРНАЯ СВЕКЛА, ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИЕ ПИГМЕНТЫ, БИОМЕТРИЯ РАСТЕНИЙ, КАЧЕСТВО УРОЖАЯ

Keywords: IMMUNOMODULATORS, PYRIDYLHYDRAZONES, SUGAR BEET, PHOTOSYNTETIC PIGMENTS, PLANT BIOMETRICS, CROP QUALITY

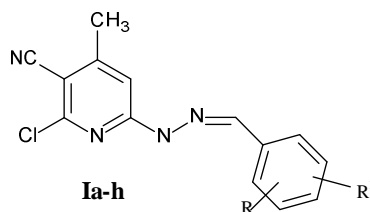
Doi: 10.21515/1990-4665-122-033

Химическая прополка посевов является важным звеном в защите сельскохозяйственных культур от сорняков, т.к. сорные растения

существенно снижают урожай важнейших культур. При плотности засорения выше экономического порога вредоносности гербициды значительно повышают урожай без затрат ручного труда и применение их является необходимым и рентабельным. Однако большинство пестицидов являются достаточно токсичными веществами, зачастую они помимо своей основной функции (защиты от болезней, сорняков и вредителей) оказывают стрессовое действие на защищаемую культуру. Стрессовый эффект может проявляться в виде замедления роста и развития различных метаболических процессов, снижения всхожести, появления пятен, ожогов, скручивания листьев, повышения подверженности болезням и других симптомов, а в конечном итоге выражается в значительном недоборе урожая [1]. Таким образом, создание средств снижения отрицательного действия гербицидов на культурные растения весьма актуально.

Сахарная свёкла относится к одной из основных экономически важных сельскохозяйственных культур. В новых, интенсивных технологиях средства защиты сахарной свёклы применяются очень широко. Несмотря на эффективность химических способов уничтожения сорняков, недобор сельскохозяйственной продукции от фитотоксичности гербицидов ежегодно составляет 15-20 %. [2]. Поэтому, одновременно с проблемой повышения биологической эффективности препаратов необходимо разрабатывать меры и средства, которые защищают культурные растения от нежелательных последствий их применения.

Задачей нашего исследования являлся синтез и биологический скрининг новых химических соединений – потенциальных иммуномодуляторов сахарной свёклы. Для этого был синтезирован ряд производных пиридилгидразонов, общей формулы **I**:



Ia R = H, R¹ = CH₃; **Ib** R = H, R¹ = 4-NO₂; **Ic** R = H, R¹ = 4-NH-C(O)CH₃; **Id** R = H, R¹ = 4-N(C₂H₅)₂; **Ie** R = 2-OH, R¹ = 4-Br; **If** R = H, R¹ = 4-N(CH₃)₂; **Ig** R = H, R¹ = 4-OH; **Ih** R = H, R¹ = 4-OC₂H₅.

Пиридилгидразоны – перспективный класс соединений в плане поиска БАВ, среди них найдены представители с высокой антидотной и рострегулирующей активностями [3-5].

Синтез соединений **Ia-h** осуществляли взаимодействием 4-метил-6-метилгидразино-2-хлорникотинитрила с ароматическими альдегидами при кипячении в среде этанола. Выход целевых продуктов составил 61- 82 %. Для всех синтезированных соединений определены физико-химические константы (T_{пл.}, T_{кип.}), их структура подтверждена элементным анализом, а также методами ЯМР ¹H-спектроскопии и масс-спектрометрии. Индивидуальность соединений установлена с помощью тонкослойной хроматографии. Синтез исходного 4-метил-6-метилгидразино-2-хлорникотинитрила описан в работе [6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценку иммуномодулирующей активности синтезированных соединений проводили на сахарной свекле гибрида F₁ Аллигатор.

Первичную оценку активности новых соединений осуществляли в лабораторном опыте по величине их рострегулирующего эффекта. Для этого использовали официально рекомендованную методику проращивания семян в «рулонах» по ГОСТ 12044-93, пп. 10.3, 10.7. Повторность опыта четырёхкратная. В каждом варианте опыта семена сахарной свёклы обрабатывали 30 мл рабочего раствора препаратов. Затем семена выдерживали в течение 1 ч при 21-22 °С в отсутствии света.

Обработанные семена (по 50 шт.) раскладывали в линию с интервалом 1-2 см на увлажненную по полной влагоемкости полосу фильтровальной бумаги, которую сворачивали в рулон. Рулоны устанавливали вертикально в химические стаканы и термостатировали при 22-25 °С. Через 10 суток опыт заканчивали и проводили биометрическую оценку растений. Данные учётов обрабатывали статистически (при уровне значимости $P = 0,95$).

Отобранные в лабораторном опыте соединения **Ib** и **Ie** изучали в условиях полевого опыта.

Опыт на сахарной свекле был заложен по схеме:

- Контроль – без обработки (ручная прополка);
- Эталон – обработка баковой смесью гербицидов;
- Смесь гербицидов + соед. **Ib** 20 г/га;
- Смесь гербицидов + соед. **Ib** 40 г/га;
- Смесь гербицидов + соед. **Ie** 20 г/га;
- Смесь гербицидов + соед. **Ib** 40 г/га;

Расход рабочего раствора 300 л/га;

В баковой смеси использовали гербициды, общепринятые в технологии выращивания сахарной свеклы: Бетанал 22 - селективный гербицид для послевсходового контроля однолетних двудольных сорняков; Лонтрел[®] 300 - послевсходовый гербицид для защиты от комплекса трудноискоренимых сорняков (осот, горчак ползучий и др.); Зелек Супер – селективный послевсходовых системный гербицид, предназначенный для борьбы с однолетними и многолетними злаковыми сорняками.

Обработку растений проводили в фазу 4-6 настоящих листьев сахарной свёклы, при обработке к баковой смеси гербицидов добавляли растворы исследуемых веществ **Ib** и **Ie**. Баковая смесь содержала следующие количества гербицидов: Зеллек - Супер, КЭ + Бетанал 22, КЭ +

Лонтрел 300, ВР в дозе – 0,37 л/га + 0,7 л/га + 0,2 л/га (доза гербицидов снижена на 30% от рекомендованной).

Одним из механизмов действия гербицидов группы Бетанала, широко применяемых на посевах сахарной свёклы, является подавление фотосинтеза за счёт ингибирования транспорта электронов. При этом замедляется синтез важнейших аминокислот – предшественников белка. Содержание хлорофилла снижается на 9-12% [7]. В результате, растения приостанавливаются в росте, тормозятся физиолого-биохимические процессы, наблюдается, так называемая «гербицидная яма» - до 2-3 недель, что сильно сказывается на урожайности культуры.

Для изучения элементов иммуномодулирующего действия наших соединений **Ib** и **Ie**, определяли содержание пигментов в листьях растений, биометрические показатели надземной части и корнеплодов, урожайность и сахаристость.

Пробы на содержание пигментов отбирали на следующий день и через каждые 5 дней после обработки. Содержание фотосинтезирующих пигментов в листьях растений (хлорофилла а, хлорофилла b и каротиноидов) определяли на спектрофотометре Genesys 8 (Thermo Spectronic, Англия), в экстрактах 96 %-ным этанолом с последующим расчетом по формулам Лихтенталлера [8].

Биометрические показатели надземной части и корнеплодов определяли в фазу смыкания листьев в междурядьях и при уборке урожая, в том числе площадь ассимиляционной поверхности листьев по методике Н.И. Орловского [9], динамику накопления растениями сырой и абсолютно сухой биомассы по методике Глеванского [10].

Учет урожая осуществляли количественно-весовым методом, путем подсчета и взвешивания корнеплодов с учетных площадок. Содержание сахара в корнеплодах определяли по ГОСТу Р53036-2008. Статистическую обработку результатов исследований проводили по прописи Б. А.

Доспехова [11]. О достоверности разницы между вариантами судили по критерию Стьюдента при уровне значимости $t_{0,05}$ и $НСР_{05}$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам полевого опыта оба изучаемые соединения **Ib** и **Ie** проявили защитный эффект от негативного воздействия гербицидов на высоком уровне. Данные таблицы 1, свидетельствуют, что применение на растениях испытываемых соединений оказало существенное влияние на надземные органы растений. Под их влиянием увеличилась высота растений на 0,1-4,5 см, число листьев – 0,1-2,0 шт, площадь листьев – 0,12-2,03 $дм^2$ в сравнении с гербицидным эталоном. Увеличение параметров надземных органов привело к увеличению биомассы и массы сухого вещества. Биомасса надземных органов от применения испытываемых соединений увеличилась на 0,92-20,58 г, сухого вещества на 0,77-7,04 г. Следует отметить, что использование соединения **Ie** в дозе 20г/га оказалась более эффективным, так как на этом варианте были отмечены самые высокие значения по всем показателям.

Таблица 1. Биометрия сахарной свеклы в фазе смыкания листьев в междурядьях гибрида F₁ Аллигатор, 2016 г.

Вариант	Высота надземной части растений, см	Число листьев, шт	Масса листьев, г	Сухая масса листьев, г	Масса листовых пластинок, г	Площадь листьев, $дм^2$	Корнеплод		
							Длина, см	Диаметр, см	Масса, г
Контроль	33,5	18,5	90,4	16,2	48,4	13,4	23,4	7,9	450,38
Эталон	33,1	18,0	88,04	15,01	46,63	12,17	22,2	7,5	420,63
Ib 20 г/га	33,2	18,1	85,93	15,83	47,06	12,29	23,6	8,0	478,62
Ib 40 г/га	37,6	20,0	104,34	22,05	54,64	14,01	22,7	8,1	486,94
Ie 20 г/га	37,1	17,4	108,62	20,96	55,68	14,02	23,6	8,3	498,21
Ie 40 г/га	36,5	18,3	88,96	15,78	47,15	12,32	22,6	8,1	475,32
$НСР_{05}$	2,3	1,4	2,5	1,5	1,4	1,9	1,3	0,6	6,0

Применение на растениях сахарной свеклы испытуемых соединений **Ib** и **Ie** активизировало не только рост и развитие надземных органов, но и синтез фотосинтетических пигментов в листьях растений. На графике представлено содержание пигментов хлорофилла а, хлорофилла б и каротиноидов за период вегетации сахарной свёклы (рис.1).

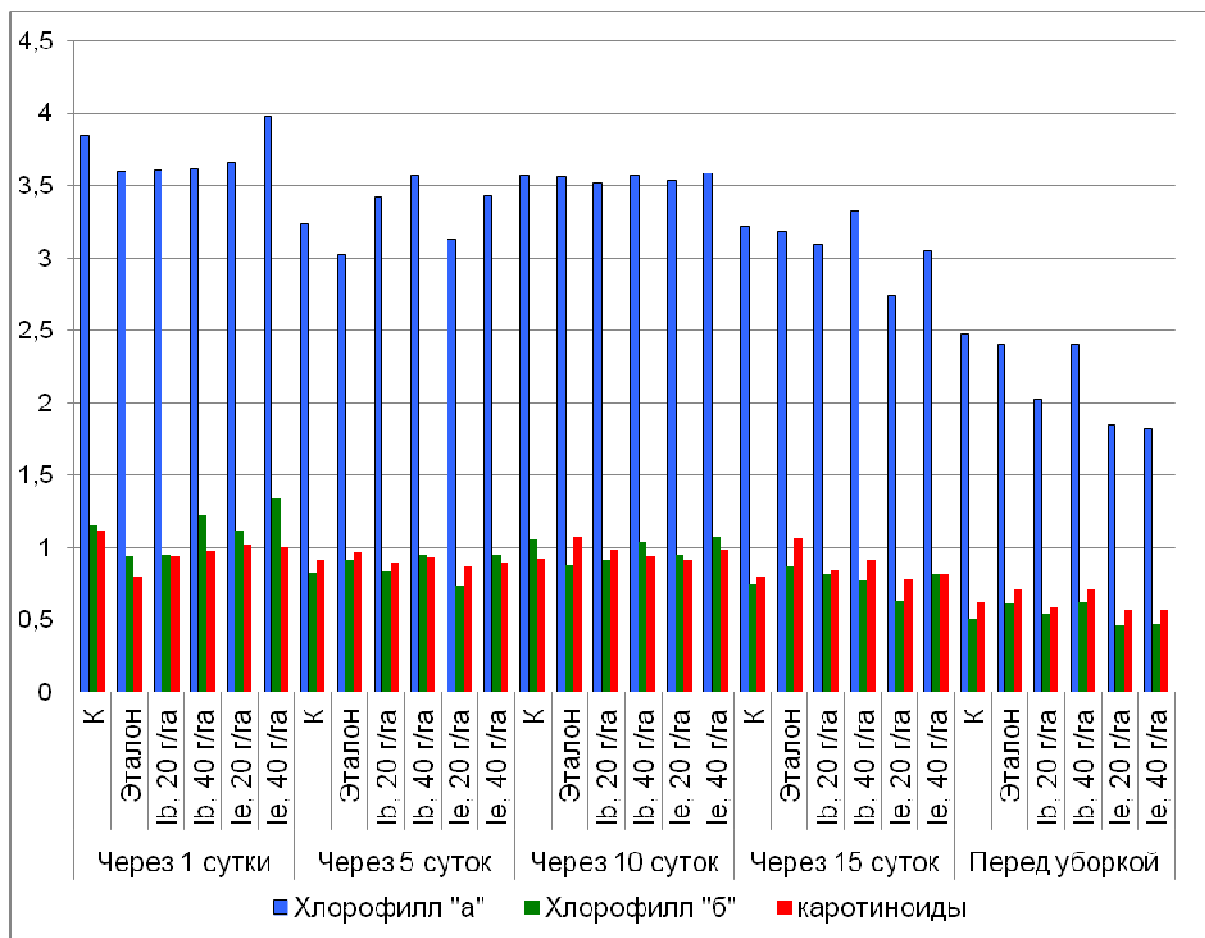


Рисунок 1 – Содержание пигментов в листьях растений сахарной свеклы мг/дм²

Как видно из данных графика, применение испытуемых соединений, усиливает процессы синтеза пигментов в листьях растений. На эталонном варианте было отмечено снижение содержания хлорофилла «а» на 5 сутки после обработки, что говорит о наступлении стрессового состояния растений. В вариантах же с испытуемыми соединениями хлорофилл «а» был на уровне или выше контрольного варианта, что свидетельствует о

повышении иммунитета растений в результате воздействия соединений **Ib** и **Ie**.

Что касается урожайности, то оба соединения **Ib** и **Ie** в двух дозах обеспечили прибавку урожая сахарной свёклы на уровне 10,2 – 14, 8 % по отношению к гербицидному контролю, что составляет 56,0 – 81,7 ц/га (табл. 2).

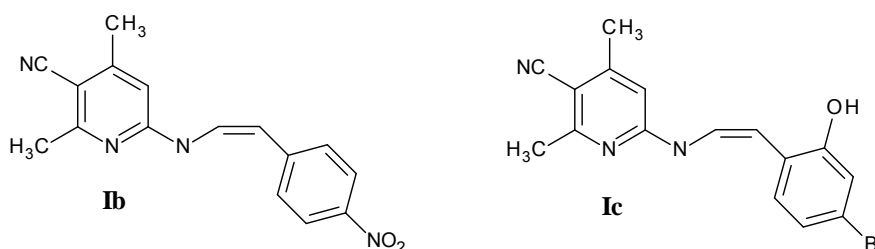
Таблица 2. Урожайность сахарной свеклы гибрида F₁ Аллигатор, 2016 г.

Вариант	Урожайность ц/га	Прибавка к контролю		Корнеплод			Содержание сахара, %	Выход сахара, т/га
		ц/га	%	Длина, см	Диаметр, см	Масса, г		
Контроль	564,8	-	-	26,3	9,3	635,41	15,0	8,5
Эталон	551,5	-12,5	-2,2	25,7	9,2	620,44	13,2	7,3
Ib 20 г/га	617,1	65,6	11,9	27,1	9,6	694,27	17,6	10,8
Ib 40 г/га	620,3	68,8	12,5	26,9	9,7	697,89	17,8	11,0
Ie 20 г/га	633,2	81,7	14,8	27,1	9,8	712,36	17,0	10,7
Ie 40 г/га	607,5	56,0	10,2	27,0	9,7	683,46	18,0	10,9
НСР ₀₅	9,3						0,5	

В то же время оба препарата существенно увеличивали сахаристость корнеплодов. Так, применение соединения **Ie** позволило повысить процентное содержание сахара по отношению к гербицидному эталону на 4,6%, а выход сахара на 3,7 т/га. В других вариантах эти показатели были незначительно ниже, прибавка составила от 3,4 до 3,6 т/га.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, применение новых синтезированных соединений:



обеспечило существенное и достоверное повышение урожая сахарной свеклы по сравнению с гербицидным контролем. Прибавка урожая к эталону составила 56,0 – 81,7 ц/га или 10,2 – 14,8 %.

Использование препаратов положительно влияет на формирование таких элементов структуры урожая, как число, масса и площадь листьев, величина и масса корнеплодов, что обеспечивает существенное повышение продуктивности культуры. Увеличивается также содержание пигментов, что повышает стрессустойчивость растения к гербицидному воздействию. Качественные показатели корнеплодов (сахаристость) на 3,8-4,6 % превышают таковые у эталона.

Это значительное увеличение продуктивности основных показателей сахарной свёклы даёт основание рекомендовать дальнейшее более детальное изучение этих соединений с целью регистрации в качестве препаратов, повышающих иммунитет культуры.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-44-230459 р_а и администрации Краснодарского Края.

Литература

1. Захарычев В.В. Гербициды и регуляторы роста растений // М: РХТУ им. Менделеева. 2007. 204 с.
2. Захаренко В.А. Экономическая эффективность химической защиты растений в условиях реформируемой экономики России / В.А. Захаренко // Агрохимия. 1998. № 10. - с. 74-82.
3. Пат. РФ, № 2338377. Способ стимулирования роста сахарной свеклы регулятором роста. Назаренко Д.Ю., Стрелков В.Д., Дядюченко Л.В., Дмитриева И.Г.. Опубликовано 20.11.2008 г.
4. Дядюченко Л.В. Антидотная и рострегулирующая активность N1-арил-N2-(замещённый нитрило)гидразонов / Л.В. Дядюченко, И.Г. Дмитриева, Д.Ю. Назаренко, В.Д. Стрелков // Агрохимия. 2014. № 7. С. 33-37.
5. Стрелков В.Д.. Синтез и скрининг гербицидных антидотов на подсолнечнике / В.Д. Стрелков, Л.В. Дядюченко, И.Г. Дмитриева, Л.И. Исакова // Международная научно-практическая конф. «Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем», г. Краснодар, 2010, с. 503-516.
6. Дмитриева И.Г. Синтез 6-гидразино(алкилгидразино)-4-метил-2-хлорнитрилов / И.Г. Дмитриева, Л.В. Дядюченко, Л.Д. Конюшкин, Е.А. Кайгородова // Изв. Вузов. Химия и хим. технол. 2006. Т. 49. № 8. с. 119.
7. Дворянкин Е.А. Действие гербицидов группы Бетанала на фотосинтез сахарной свеклы / Е. А. Дворянкин, А. Е. Дворянкин // Сахарная свекла: научно - практический журнал. 2011. № 4. с. 33-37.

8. Lichtentaller H.K., Wellburn A.R. Determinations of total extracts in different solvents / H.K.,Lichtentaller, A.R. Wellburn // Biochem. Soc. Transactions. 1983. Vol. 11. № 5. p. 591-592.

9. Орловский Н.И. Основы биологии сахарной свеклы / Н.И. Орловский // Киев: Госсельхозиздат УССР. 1961. 302 с.

10. Глеванский И. В. Свекловодство / И. В. Глеванский, В. Ф. Зубенко, А. С. Мельниченко. К. 1989. 207 с.

11. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта с основами статистической обработки результатов исследований / Б.А. Доспехов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Колос. 1979. 416 с.

References

1. Zaharychev V.V. Gerbizidy i regulatory rosta rastenij // M: RHTU im. Mendeleeva. 2007. 204 s.

2. Zaharenko V.A. Jekonomicheskaja jeffektivnost' himicheskoy zashhity rasteniy v uslovijah reformiruemoj jekonomiki Rossii / V.A. Zaharenko // Agrohimiya. 1998. № 10. s. 74-82.

3. Patent RU, № 2338377. Sposob stimulirovanija rosta saharnoj svekly reguljatorom rosta. Nazarenko D. Yu., Strelkov V.D., V.D., Dyadyuchenko L.V., Dmitrieva I.G. Opublikovano 20.11.2008.

4. Dyadyuchenko L.V. Antidotnaja i rostregulirujushhaja aktivnost' N1-aril-N2-(zameshhennyj nikotinonitril)gidrazonov / L.V. Dyadyuchenko, I.G. Dmitrieva, D. Yu. Nazarenko, V.D. Strelkov // Agrohimiya. 2014. № 7. s. 33-37.

5. Strelkov V.D. Sintez i skringing gerbizidnyh antidotov na podsolnechnike / V.D. Strelkov, L.V. Dyadyuchenko, I.G. Dmitrieva, L.I. Isakova // Mezhdunarodnaja nauchno-prakticheskaja konf. «Biologicheskaja zashhita rasteniy – osnova stabilizacii agrojekosistem», g. Krasnodar, 2010, s. 503-516.

6. Dmitrieva I.G. Sintez 6-gidrazino(metilgidrazino)- 4-metil-2-hlornikotinonitrilov / I.G. Dmitrieva, L.V. Dyadyuchenko, L.D. Konjushkin, E.A. Kajgorodova // Izv. BUZov. Himija i him. Tehnol. 2006. T. 49. № 8. s. 119.

7. Dvorjankin E.A. Dejstvie gerbizidov grupy Betanala na fotosintez saharnoj svekly / E.A. Dvorjankin, A.E. Dvorjankin // Saharnaja svekla: nauchno- prakticheskiy zhurnal. 2011. № 8. s. 33-37.

8. Lichtentaller H.K., Wellburn A.R. Determinations of total extracts in different solvents / H.K.,Lichtentaller, A.R. Wellburn // Biochem. Soc. Transactions. 1983. Vol. 11. № 5. s. 591-592.

9. Orlovskiy N.I. Osnovy biologii saharnoj svekly // N.I. Orlovskiy // Kiev: Gosselhozizdat USSR. 1961. 302 s.

10. Glevanskiy I.V. Sveklovodstvo / I.V. Glevanskiy, V.F. Zubenko, A.S. Melnichenko. K. 1989. 207 s.

11. Dospheov B.A. Metodika polevogo opyta s osnovami statisticheskoy obrabotki rezultatov issledovaniy / B.A. Dospheov. 4-e izd. , pererab. i dop. M: Kolos/ 1979. 416 s.