

3-(6,11-Diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgšties poveikis rapsų (*Brassica napus* L.) morfogenezei *in vitro* ir gliukozinolatų bei tiocianatų kiekiui

V. Kaminskaitė, I. Jonuškienė, A. Voskienė

Kauno technologijos universitetas,

Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas, Lietuva

E-mail: vitalijakaminskaite@yahoo.com

crossref <http://dx.doi.org/10.5755/j01.ct.60.2.1948>

Gauta 2012 m. birželio 7 d.; priimta spaudai 2012 m. birželio 20 d.

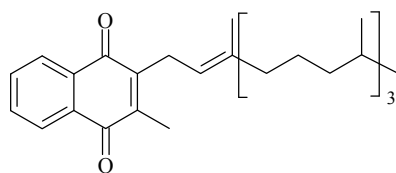
Nustatyta, kad rapsų (*Brassica napus* L.) 'Sponsor' stiebų augimą *in vitro* stimuliuo ir biomasę padidino 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštis, kurios koncentracija Murashige-Skoog (MS) terpėje buvo 1 mg/l. Mažiausias gliukozinolatų kiekis buvo aptiktas rapsų antžeminėje dalyje, augusioje ant MS terpės su 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštimi (2 mg/l). Šis kiekis buvo 5,9 karto mažesnis už MS (kontrolinėje) terpėje augusių rapsų gliukozinolatų kiekį. Gauta, jog mažiausias tiocianatų kiekis buvo rapsų šaknyse, susiformavusiose MS terpėje su 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštimi (1,5 mg/l), kuris buvo 3,8 karto mažesnis už MS terpėje augusių rapsų tiocianatų kiekį.

Įvadas

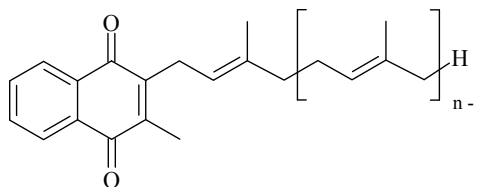
Rapsai – bastutinių (*Brassicaceae*) šeimai priklausantis vertingas aliejinis augalas. Pasaulyje rapsų sėklos – vienos pagrindinių aliejinių augalų sėklų, iš kurių gaunamas maistinis aliejus, aliejus biokuro gamybai, o aliejaus gamybos šalutiniai produktai – išspaudos – gali būti vertingas papildas, praturtinantis gyvulių pašarus baltymais. Rapsų produktyvumas, juose besikaupiančių maistinių medžiagų, pirminių ir antrinių metabolitų kiekis labai priklauso nuo jų veislės, agrotechnikos, gamtinių sąlygų. Gliukozinolatų ir kitų metabolitų kiekis gali kisti ir dėl to, kokiais cheminiais preparatais augalai buvo veikiami vegetacijos metu. Pasaulyje plačiai tiriamos sintetinių augimo reguliatorių panaudojimo galimybės, jų poveikis žemės ūkio augalų produktyvumui bei kenksmingų metabo-

litų kiekio mažinimui. Ieškoma naujų junginių, kurie ne tik turėtų įtakos antrinių metabolitų susidarymui augalų ląstelėse, bet ir skatintų augalų augimą. Todėl mokslininkai sintetina ir tiria junginius, savo struktūra panašius į natūraliai augaluose susidarantį medžiagas.

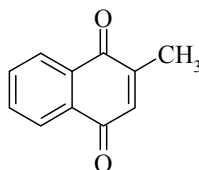
Junginiai, savo sudėtyje turintys chinoidinę struktūrą, aptinkami gamtoje ir išskiriami iš įvairių bakterijų, augalų, grybų. Tarp fiziologiškai aktyvių naftochinono darinių reikšmingiausi yra K grupės vitaminai (1 pav.), dalyvaujantys kraujo krešėjimo faktorių ir kai kurių kitų baltymų potransliacinėje modifikacijoje, elektrono pernašoje per chloroplastų membraną fotosintezės metu, sukuriantys transmembraninį protonų gradientą.



Vitaminas K_1 (filochinonas,
2-metil-3-fetil-1,4-naftochinonas)



Vitaminas K_2 (menachinonas,
2-metil-3-prenil-1,4-naftochinonas)



Vitaminas K_3 (menadionas, 2-metil-1,4-naftochinonas)

1 pav. K grupės vitaminai

Augaluose ir mikroorganizmuose biosintetinami citotoksiški naftochinonai gali būti naudojami medicinoje kaip vaistai pirmuonių, grybelių ir bakterijų sukeliams ligoms ir navikiniams susirgimams gydyti. Terapiniams tikslams kuriami sintetiniai naftochinonų analogai. Eksperimentiškai tiriant naftochinonų darinių molekulinis veikimo mechanizmus, sukuriamos sistemos, imituojančios biologines membranas [1].

Šiuo metu yra atliekami biologinio aktyvumo tyrimai su 1,4-naftochinono dariniais, siekiant atrasti naujų junginių, pasižyminčių augimo reguliatoriams būdingomis savybėmis ir turinčių įtakos metabolitų susidarymui. Augalų biotechnologijoje menadiono (vitamino K₃) natrio bisulfitas yra naudojamas kaip augimo reguliatorius, kuris skatina pomidorų (*Solanum lycopersicum* L.) ir mėlynžiedės liucernos (*Medicago sativa* L.) kaliaus augimą bei spindulinės pupuolės (*Vigna radiata* L.) ūgliukų šaknimąsi *in vitro*. Menadiono natrio bisulfitas taip pat skatina 3-indolilacto rūgšties koncentracijos padidėjimą pomidorų, agurkų, paprikų ir javų ūgliuose [2, 3].

Pažymėtina, kad benzoksazino dariniai taip pat pasižymi biologiniu aktyvumu. 4*H*-3,1-Benzoksazina ir jų 1,2-dihidrodariniai gali būti naudojami kaip herbicidai [4] ir augalų augimo reguliatoriai [5]. Pakeisti 4*H*-3,1-benzoksazina medicinoje taikomi kaip preparatai, pasižymintys priešgrybeliniu, raminamuoju, analgetiniu, spazmolitiniu poveikiu [6, 7]. 1,4-Benzoksazino darinių gliukozidai aptikti ir išskirti iš miežių, rugių ir kukurūzų.

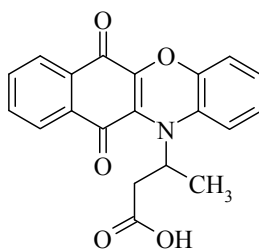
β-Aminorūgštys dažnai aptinkamos bakterijų, grybų ir augalų antrinių metabolitų sudėtyje. Jos ne taip plačiai paplitusios gamtoje kaip jų α-analogai, tačiau jų yra natūralių produktų – peptidų, ciklopeptidų, glikopeptidų, alkaloidų sudėtyje. Junginiai, turintys β-aminorūgšties fragmentą ir pasižymintys antibiotinėmis, priešvėžinėmis savybėmis, naudojami farmacijos pramonėje.

Anksčiau buvo nustatyta, kad 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštis stimuliuoja miežių daigų augimą ir yra rekomenduotina tolesniems biotechnologiniams tyrimams [8]. Todėl šis junginys buvo pasirinktas tyrimams su vasariniais rapsais (*Brassica napus* L.). Rapsuose esantys gliukozinolatai (dėl tiogliukozido gliukohidrolazės poveikio) skyla į gliukozę ir aglikoną, kuris neutraliomis sąlygomis atpalaiduoja sulfatą, o po to (priklausau nuo gliukozinolato prigimties bei reakcijos sąlygų) suskyla į tiocianatą, nitrilą, epitionitrilą arba į oksazolidin-2-oną. Konkrečių gliukozinolato skilimo produktų poveikis skirtingiems organizmams skiriasi ir ne visada yra žinomas. Tačiau žinoma, kad didelis šių junginių kiekis pašaruose ir maisto produktuose gali turėti toksiinį poveikį [9, 10]. Rapsų kaliaus (susiformavusio iš šaknų, lapų, stiebų, hipokotilių) ir suspensinė ląstelių kultūros *in vitro* yra naudojamos antrinių metabolitų kiekiui nustatyti ir reguliuoti. Biotechnologiniais metodais galima atrinkti rapsų kaliaus kultūras *in vitro*, kurios kauptų sumažintus toksinių junginių (gliukozinolato, tiocianato) kiekius rapsuose [11].

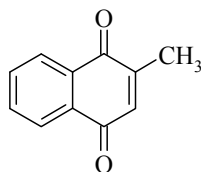
Šio darbo tikslas – ištirti 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgšties poveikį rapsų (*Brassica napus* L.) morfogenezei *in vitro* ir gliukozinolato bei tiocianato kiekiui.

Tyrimų metodika

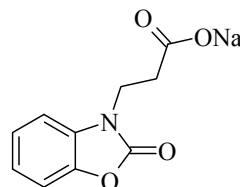
Tyrimams pasirinktas Organinės chemijos katedroje susintetintas junginys – 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštis (**1**), o rezultatams palyginti naudoti 2-metil-1,4-naftochinonas (**2**) ir žinomas augimo stimulatorius Stilitas-14 – 3-(3-benzoksazonil)propano rūgšties natrio druska (**3**) (2 pav.).



3-(6,11-Diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštis (**1**)



2-Metil-1,4-naftochinonas (**2**)



3-(3-Benzoksazonil)propano rūgšties natrio druska (**3**)

2 pav. Tyrimams naudoti junginiai

Vasariųjų rapsų 'Sponsor' sėklos sterilizuotos išlaikant jas 1 min 70 % C₂H₅OH, 20 min 10 % dezinfekuojančiame tirpale, po to tris kartus praplautos steriliu distiliuotu vandeniu. Sėklos daigintos ant Murashige &

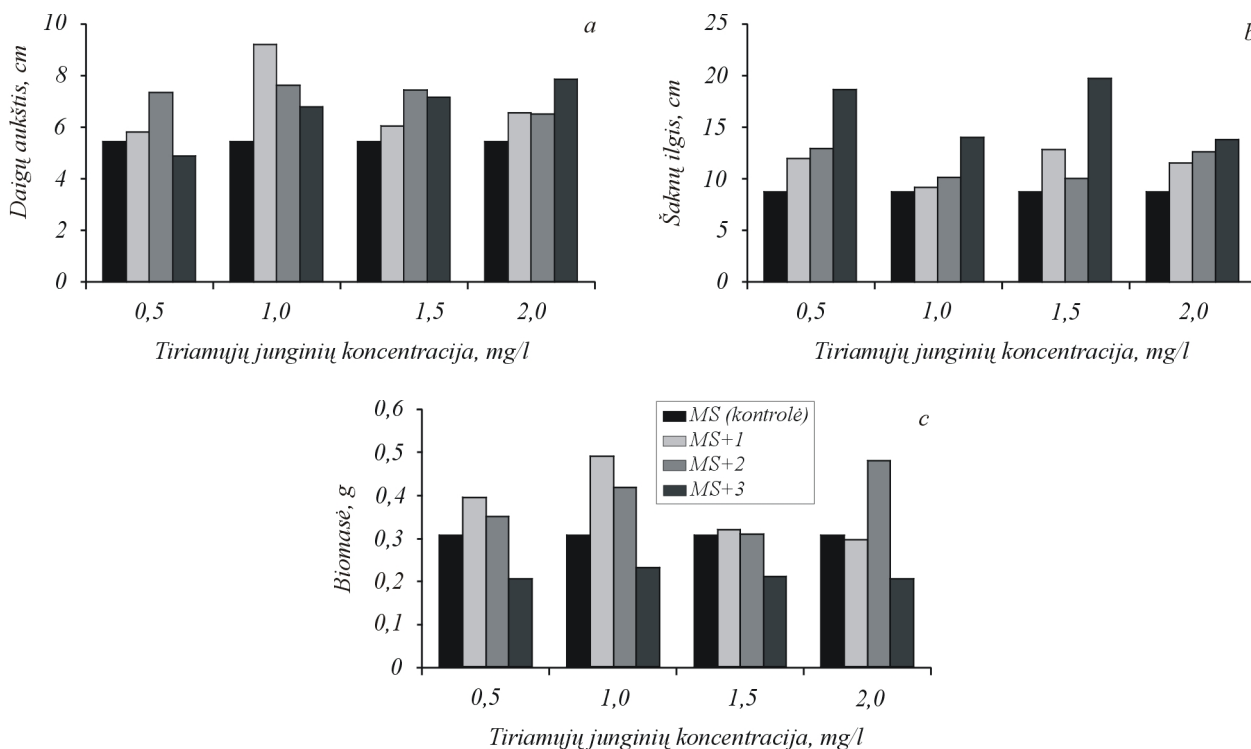
Skoog (MS) maitinamosios terpės (kontrolinės) ir ant terpių su **1**, **2** ir **3** junginiais, kurių koncentracijos buvo 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mg/l. Sudygę daigai skaidyti į atskirus eksplantus (šaknis, lapus, stiebus, hipokotilius) ir perkelti

ant kaliaus kultūrų susidarymo terpės (MSK) (kontrolinės), t. y. Murashige & Skoog terpės papildytos 2,4-dichlorfenoksiacto rūgštimi (2,4-D) – 0,2 mg/l ir 6-benzilaminopurinu (BAP) – 2 mg/l bei MSK terpės su tiriamuoju junginiu **1** ir palyginamaisiais junginiais **2**, **3** (konc. 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mg/l) [12]. Rapsų vegetatyvinės dalims ir kaliaus morfogenezei įvertinti jie buvo auginti *Petri* lėkštelėse. Rapsai buvo daiginami 30 dienų, esant 24–25 °C temperatūrai ir liuminescenciniam apšvietimui. Gliukozinolatai ir tiocianatai rapsų vegetatyvinėse dalyse ir kaliaus kultūrose *in vitro* buvo nustatyti spektrofotomet-

riniu metodu [13, 14].

Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

Rapsų 'Sponsor' sėklos *in vitro* buvo augintos ant MS terpės su **1** tiriamuoju junginiu (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mg/l konc.), o rezultatams palyginti tyrimai atlikti su vitaminu K3 (**2**) ir Stilitu-14 (**3**), kurių koncentracijos tokios pat kaip ir **1** tiriamojo junginio. Po 30 dienų auginimo įvertintas rapsų daigų aukštis, šaknų ilgis ir biomasė. Tyrimo rezultatai parodyti 3 paveikslėse.



3 pav. Rapsų, augusių ant MS terpės su **1**, **2**, **3** tiriamaisiais junginiais, daigų aukštis (a), šaknų ilgis (b) ir biomasė (c)

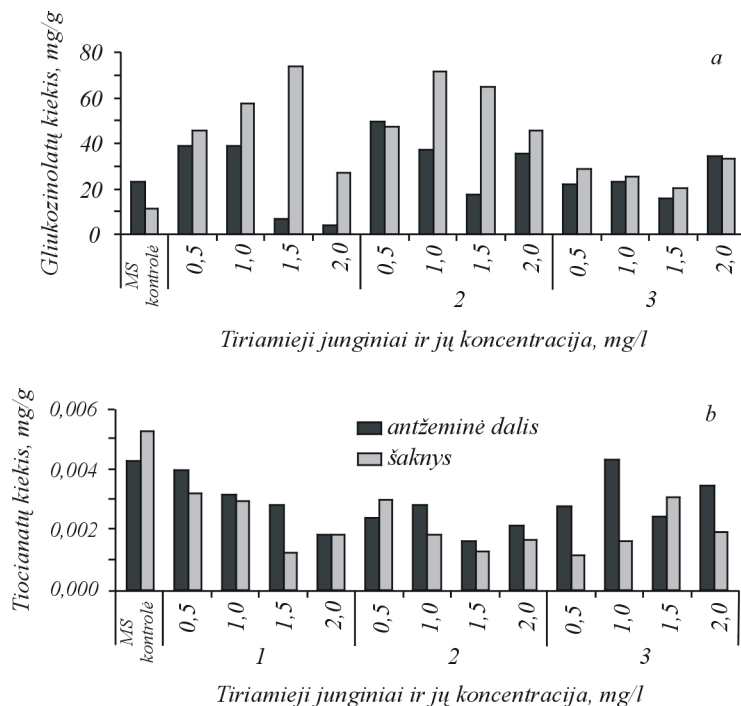
Tyrimo rezultatai parodė, kad aukščiausi rapsų daigai užaugo ant MS terpės su 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12H-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštimi (**1**), esant jos koncentracijai terpėje 1 mg/l. Dėl šio junginio poveikio rapsų daigai buvo 70 % aukštesni, palyginus su kontroliniu bandiniu, bei atitinkamai 21 ir 35 % didesni nei veikiant 2-metil-1,4-naftochinonu ir Stilitu-14. **1** junginys taip pat skatino ir šaknų augimą, esant visoms koncentracijoms, tačiau poveikis, palyginti su Stilitu-14 įtaka šaknims, buvo nedidelis. Didžiausias rapsų biomasės prieaugis – 59 % gautas veikiant augalus junginiu **1** (1 mg/l). Pastebėta, kad didinant **1** junginio koncentracijas nuo 0,5 iki 1 mg/l rapsų daigų biomasė padidėjo, o nuo 1,5 iki 2 mg/l – sumažėjo. Išauginus tiriamąją žaliavą, toliau buvo tiriamas gliukozinolatų ir tiocianatų kaupimas rapsų antžeminėje dalyje ir šaknyse. Apibendrinus rezultatus nustatyta, kad mažiausiai gliukozinolatų susikaupė rapsų antžeminėje dalyje, susiformavusioje ant MS terpės su **1** junginiu (2 mg/l). Šis kiekis buvo: mažesnis 9,04 karto už MS + **2** (2 mg/l), 8,75 karto už MS + **3** (2 mg/l) ir 5,9

karto už MS terpės augusių rapsų antžeminės dalies gliukozinolatų kiekį (4 pav.).

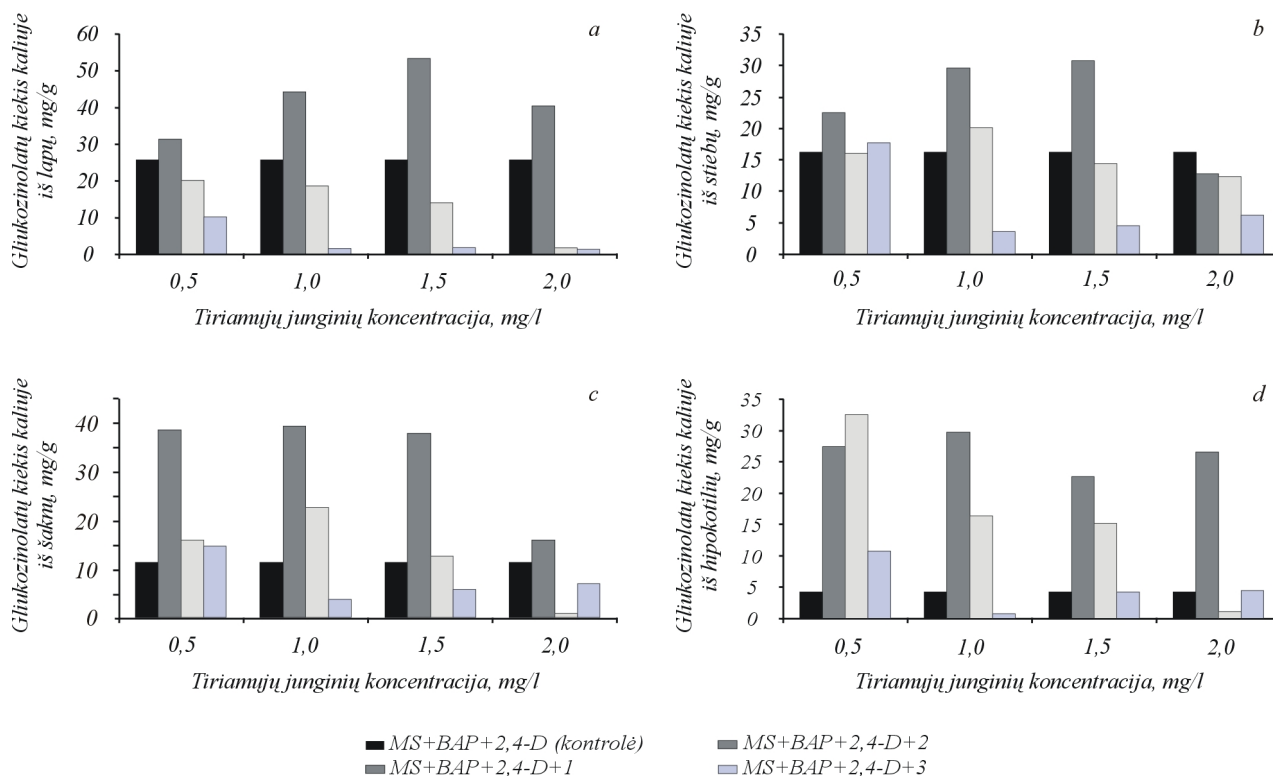
Tiocianatų tyrimo rezultatai (4 pav.) parodė, jog mažiausiai tiocianatų susikaupė rapsų, augusių MS terpėje su **1** junginiu (1,5 mg/l), šaknyse. Jų buvo 1,1 karto mažiau už MS + **2** (1,5 mg/l), 2,5 karto už MS + **3** (1,5 mg/l) ir 4,3 karto už kontrolinėje MS terpėje augusių rapsų šaknyse susikaupusių tiocianatų kiekį.

Rapsų kaliaus kultūrų *in vitro* prieaugiui įvertinti, rapsų eksplantai (šaknys, lapai, stiebai, hipokotiliai) auginti 30 dienų ant pasirinktos kaliaus susidarymo terpės – MS + BAP (2 mg/l) + 2,4-D (0,2 mg/l). Tyrimo rezultatai parodė, kad didžiausia rapsų kaliaus biomasė (0,401 g) gauta iš šaknų. Ši kaliaus biomasė buvo 3 kartus didesnė, palyginti su mažiausia rapsų kaliaus biomasė, t. y. hipokotilių. Gautose kaliaus kultūrose taip pat buvo ištirtas antrinių metabolitų – gliukozinolatų ir tiocianatų kaupimasis.

Gliukozinolatai buvo nustatyti rapsų kaliaus kultūrose *in vitro* (susiformavusiose iš lapų, šaknų, stiebų, hipokotilių), augusiose su **1**, **2**, **3** junginiais. Tyrimų rezultatai parodyti 5 paveikslėse.



4 pav. Gliukozinolatų (a) ir tiocianatų (b) kiekis rapsų antžeminėje dalyje ir šaknyse, augusiose maitinamosiose terpėse su 1, 2, 3 (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l koncentracijos) tiriamaisiais junginiais



5 pav. Gliukozinolatų kiekis rapsų kaliuje iš lapų (a), šaknų (b), stiebų (c) ir hipokotilių (d) susiformavusiame ant MSK terpės su 1, 2, 3 (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 mg/l koncentracijos) tiriamaisiais junginiais

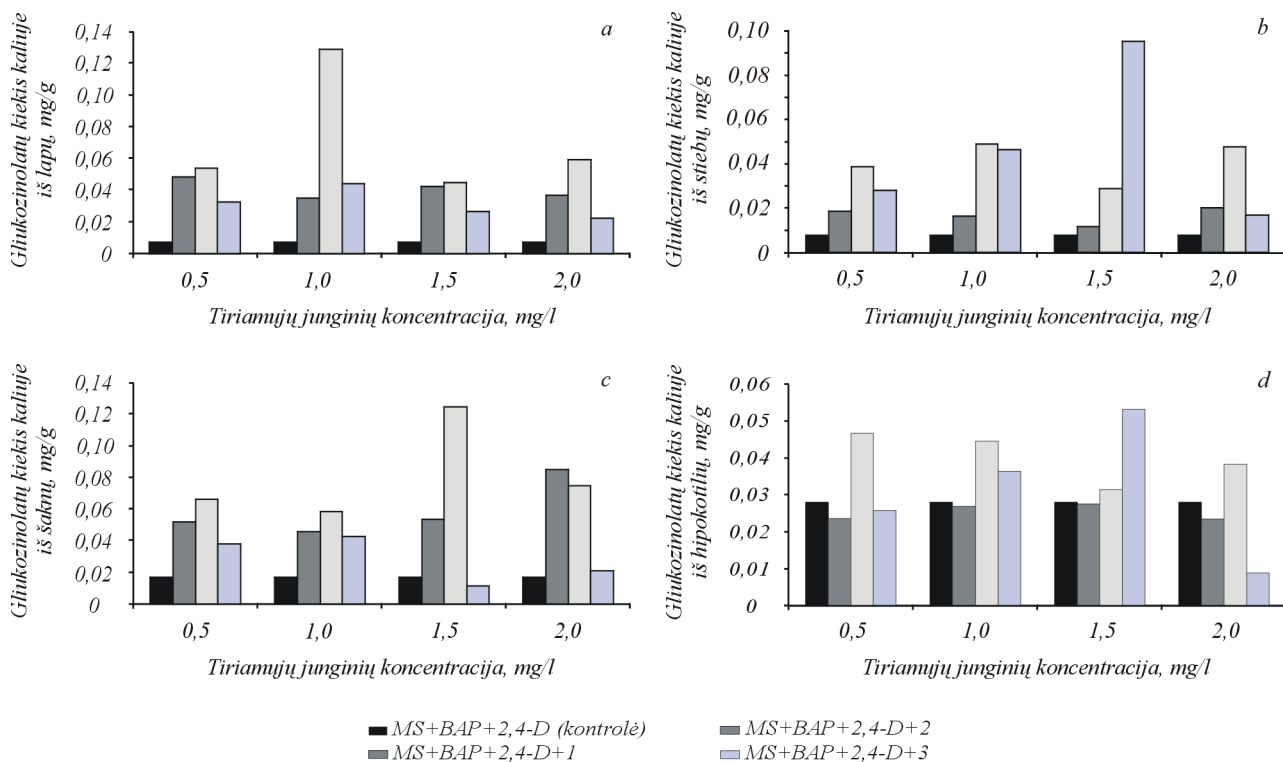
Apibendrinus rezultatus (5 pav.) matyti, kad tiriamasis junginys – 3-(6,11-dioks-6,11-dihidro-12H-benzo[b]fenoksazin-12-il)butano rūgštis (1) gliukozinolatų kiekio kaliaus kultūrose, išaugintose iš rapsų lapų, stiebų,

šaknų ir hipokotilių, nemažino. Nustatytas nežymus gliukozinolatų susidarymą kaliuje iš stiebų slopinantis 1 junginio poveikis, kai junginio koncentracija terpėje buvo 2 mg/l. Tačiau pastebėtas svarbus Stilito-14 poveikis –

junginys efektyviai slopino gliukozinolatų susidarymą. Rapsų kaliuje iš lapų, susiformavusiame ant MS + BAP (2 mg/l) + 2,4-D (0,2 mg/l) + **3** (2 mg/l) terpės, nustatytas gliukozinolatų kiekis buvo 18,2 karto mažesnis nei kontroliniame bandinyje. Stilitas-14 taip pat stabiliai mažino gliukozinolatų kiekį rapsų kaliuje iš šaknų, stiebų bei hipokotilių. Tyrimų eigoje pastebėta, kad gliukozinolatus kaliaus kultūroje mažino ir 2-metil-1,4-naftochinonas (**2**). Iš rezultatų matyti, jog mažiausias gliukozinolatų

kiekis rapsų kaliuje iš šaknų, 13,8 karto mažesnis, palyginti su kontrole, buvo nustatytas, kai kaliaus susidarymui buvo naudotas 2 mg/l koncentracijos **2** junginys.

Tiocianatų kiekio įvertinimo rapsų kaliaus kultūrose *in vitro* (susiformavusiose iš lapų, stiebų, šaknų, hipokotilių), susidariusiose ant MS terpių su **1**, **2**, **3** (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mg/l) tiriamaisiais junginiais, rezultatai parodyti 6 paveiksle.



6 pav. Tiocianatų kiekis rapsų kaliuje iš lapų (a), šaknų (b), stiebų (c) ir hipokotilių (d) susiformavusiame ant MSK terpės su **1**, **2**, **3** (0,5, 1,0, 1,5, 2,0 mg/l koncentracijos) tiriamaisiais junginiais

Apibendrinus gautus rezultatus (6 pav.) nustatyta, kad tiriamasis junginys – 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštis (**1**) nežymiai mažino tiocianatų kiekį rapsų kaliaus kultūroje iš hipokotilių. Remiantis rezultatais nustatyta, kad mažiausias tiocianatų kiekis susidaro rapsų kaliuje iš šaknų, augusiam ant kaliaus terpės su Stilitu-14 (**3**) (1,5 mg/l).

Atsižvelgiant į gautus gliukozinolatų ir tiocianatų kiekių rezultatus galima atrinkti rapsų kaliaus kultūras su mažesniais jų kiekiais ir panaudoti jas tolesniems tyrimams.

Išvados

1. Nustatyta, kad 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštis stimuliuo rapsų (*Brassica napus* L.) "Sponsor" stiebų augimą *in vitro* ir 59 % padidino biomasę, kai jos kiekis terpėje buvo 1 mg/l. Mažiausiai gliukozinolatų nustatyta rapsų antžemineje dalyje, augusioje ant MS terpės su 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštimi (2 mg/l), mažiausiai tiocianatų kaupė rapsų šaknys, esant 1,5 mg/l tiriamojo

junginio koncentracijai.

2. Nustatyta, kad Stilitas-14 efektyviausiai mažino gliukozinolatų susidarymą rapsų kaliuje iš lapų, stiebų, šaknų ir hipokotilių. Mažiausias gliukozinolatų kiekis – 18,2 karto mažesnis, palyginti su kontrole, aptiktas rapsų kaliuje iš lapų, kai Stilito-14 koncentracija terpėje buvo 2 mg/l.
3. Iširta, kad 3-(6,11-diokso-6,11-dihidro-12*H*-benzo[*b*]fenoksazin-12-il)butano rūgštis 16 % mažina tiocianatų susidarymą rapsų kaliaus kultūroje iš hipokotilių, esant 0,5 mg/l koncentracijai. Nustatyta, kad tiocianatų kiekį iš šaknų efektyviausiai (32 %), palyginti su kontrole, mažino Stilitas-14, kurio koncentracija terpėje buvo 1,5 mg/l.

Tyrimų rėmė: Lietuvos mokslo taryba, projektas MIP-120/2011.

Literatūra

1. **Bulovas A.** Biomimetiniai (metil)naftochinono ω-merkto darinių savitvarkiai monosluoksniai ant aukso ir

sidabro paviršių: elektrocheminiai ir spektroskopiniai redokso virsmų ir struktūros tyrimai (daktaro disertacija). Vilnius, 2009.

2. **Riffel A., Medina L. F., Stefani V., Santos R. C., Bizani D., Brandelli A.** // Brazilian Journal of Medicinal and Biological Research. 2002. N 35. P. 811–818.
3. **Rama Rao A. V., Ravichandran K., David S. B., Ranade S.** // Plant growth regulation. 1985. Vol. 2, N 2. P. 111–118. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01806050>
4. Pat. 4214889, JAV, 1980.
5. Pat. 2084452, Russian Federation, 1997.
6. **Zagorevskii V. A., Bendikov E. A., Lopatkina K. I., Mirzoyan R. S., Klyuev S. M., Ganshina T. S.** // Khim.-Farm. Zh. 1980, N. 12. P. 35.
7. **Shapiro S. L., Rose J. M., Freedman L.** // J. Am. Chem. Soc. 1958. N 79. P. 2811.
8. **Stankevičienė R., Jonuškienė I., Baranauskaitė R., Mickevičius V.** // Cheminė technologija. 2010. Nr. 3–4 (56). P. 19–24.
9. **Jeroch H.** // Žemės ūkio mokslai. 2008. T. 15, Nr. 4. P. 40–52.
10. **Bidlack W. R., Omaye S. T., Meskin M. S.** Phytochemicals as Bioactive Agents. Lancaster, 2000.
11. **Giri C. C., Giri A.** Plant Biotechnology. Practical manual. New Delhi, 2007.
12. Pat. 0251408 A1, JAV, 2011.
13. **Poulsen G. B.** Cruciferae Newsletter, 1996. P. 32–33.
14. **Ермаков А. И., Арасимович В. В.** Методы биохимического исследования растений. Москва: Мир, 1987.

V. Kaminskaitė, I. Jonuškienė, A. Voskienė

THE INFLUENCE OF 3-(6,11-DIOXO-6,11-DIHYDRO-12H-BENZO[b]PHENOXAZIN-12-YL)BUTANOIC ACID ON RAPESEED MORPHOGENESIS *IN VITRO* AND THEIR GLUCOSINOLATE AND THIOCYANATE LEVELS

S u m m a r y

Naphthoquinones are widely distributed in plants, fungi, and some animals. Their biological activities have been studied, including their effects on prokaryotic and eukaryotic cells. Vitamin K is a derivative of 1,4-naphthoquinone. Other natural naphthoquinones include juglone, plumbagin, droserone. Naphthoquinone derivatives exhibit important pharmacological properties: they are cytotoxic, have a significant antibacterial, antifungal, antiviral, insecticidal, anti-inflammatory and antipyretic properties.

Menadione sodium bisulphite (MSB) increased the growth of tomato plants and alfalfa callus and stimulated the rooting of mungbean cuttings. The IAA levels were increased by about 3- to 4-fold following the application of MSB to tomato, cucumber, corn and capsicum plants. Plumbagone, juglone and lawsone are naturally occurring naphthoquinones of plant origin, which have antibacterial effects on several species of both aerobic and anaerobic organisms, and toxins derived from naphthazarin (5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) are produced by *Fusarium solani* and attack plants, other fungi and bacteria.

Oilseed rape, *Brassica napus* L., is one of the crops most important for the production of vegetable oils in the world. Traditional rapeseed cultivars contain high amounts of glucosinolates. Although glucosinolates have antibacterial, antifungal properties and show a cancerchemoprevention activity, their antinutritional effects limite the use of meals from oilseed rape for human food and animal feed. Besides, these compounds provide the bitter flavour and sulfurous aroma due to breakdown. Therefore, one of the main biotechnological objectives is to reduce the content of glucosinolates in seeds to the trace levels. Rapeseed and its products are rich sources of bioactive compounds such as polyphenols, phytosterols, tocopherols and other antioxidants, which are important in the prevention and treatment of coronary heart diseases, cancers, diabetes, hypertension, neurodegenerative and autoimmune diseases.

Plant growth regulators are the critical media components in determining the developmental pathway of the plant cells. The regeneration of plants *in vitro* is interesting not only for studying the regeneration process itself, but also for the success of *in vitro* manipulations of crop improvement.

The main object of the present study was to explore the influence of 3-(6,11-dioxo-6,11-dihydro-12H-benzo[b]phenoxazin-12-yl)butanoic acid on rapeseed morphogenesis *in vitro*, as well as on glucosinolate and thiocyanate quantities.

3-(6,11-Dioxo-6,11-dihydro-12H-benzo[b]phenoxazin-12-yl)butanoic acid was synthesized at the Department of Organic Chemistry. We used the Murashige–Skoog medium with 6-benzylaminopurine (BAP) (2 mg/l) and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) (0.2 mg/l) for obtaining rapeseed callus cultures *in vitro*. The compounds were examined at different concentrations (0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/l) in the medium.

It was determined, that the growth of rapeseed ‘Sponsor’ sprouts was stimulated and biomass increased when grown on MS medium with 3-(6,11-dioxo-6,11-dihydro-12H-benzo[b]phenoxazin-12-yl)butanoic acid (1 mg/l). The lowest content of glucosinolates was found in rapeseed overground parts grown on MS medium with 3-(6,11-dioxo-6,11-dihydro-12H-benzo[b]phenoxazin-12-yl)butanoic acid (2 mg/l), and the content of thiocyanates was lowest in rapeseed roots grown in MS medium with 3-(6,11-dioxo-6,11-dihydro-12H-benzo[b]phenoxazin-12-yl)butanoic acid (1.5 mg/l).