КОРОТКІ ПОВІДОМЛЕННЯ

УДК [574.2-026.13:582.263.1] :632.954 *https://doi.org/10.31861/biosystems2025.01.208*

РЕАКЦІЯ DESMODESMUS ARMATUS НА ПРИСУТНІСТЬ ІМАЗАМОКСУ – ПОХІДНОГО ІМІДАЗОЛІНОНІВ

В.В. АНДРЮК, Л.М. ЧЕБАН

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича
вул. Коцюбинського, 2, Україна, 58012,
e-mail: l.cheban@chnu.edu.ua

У роботі досліджено вплив гербіциду імазамоксу, що належить до класу ALS-інгібіторів, на зелену мікроводорость Desmodesmus armatus. Встановлено чіткий концентраційно-залежний ефект: при низьких концентраціях (0,01–0,1 мг/л) спостерігалося часткове відновлення росту клітин, що може свідчити про активацію компенсаторних механізмів. Натомість високі дози (2,5–10 мг/л) призводили до швидкого та стійкого пригнічення клітинної активності.

Отримані результати вказують на високу чутливість D. armatus до дії імідазолінонів та підтверджують доцільність використання цього виду як модельного об'єкта для оцінки токсичності гербіцидів, що інгібують ацетолактатсинтазу.

Ключові слова: гербіциди, імазамокс, ALS-інгібітори, Desmodesmus armatus

Вступ. У сучасному землеробстві для боротьби з бур'янами активно застосовуються хімічні засоби, серед яких домінують гербіциди. Масове використання цих сполук спричиняє їхнє постійне надходження до водних екосистем, що підтверджується численними дослідженнями, згідно з якими саме гербіциди найчастіше виявляються у поверхневих водах, часто перевищуючи допустимі екологічні межі (Vonk and Kraak, 2020). Висока розчинність у водному середовищі та здатність до міграції з ґрунтів у річки й озера зумовлюють їхню значну екотоксикологічну загрозу. Особливо чутливими до дії цих речовин виявляються мікроводорості – основні первинні продуценти, які відіграють ключову роль у формуванні трофічних ланцюгів та продукуванні кисню у водоймах (Grasso et al., 2022). Як зазначають дослідники, токсичність гербіцидів щодо водоростей може мати каскадні наслідки для вищих трофічних рівнів (Onyango et al., 2024).

Особливий інтерес викликають гербіциди, створені на основі похідних імідазолінонів, зокрема імазамокс. Хімічна формула імазамоксу $C_{15}H_{19}N_3O_4$ (Rojano-Delgado et al., 2015). Представники цього класу хімічних сполук належать до інгібіторів ацетолактатсинтази (ALS, EC 4.1.3.18) — ферменту, що забезпечує початкові етапи біосинтезу незамінних розгалужених амінокислот, таких як валін, лейцин і ізолейцин. Пригнічення активності ALS призводить до порушення метаболічних процесів, пов'язаних з утворенням білків, що, в свою чергу, зумовлює зупинку росту й поступову загибель чутливих до дії препарату видів (Tan et al., 2005). Після потрапляння на рослину імазамокс абсорбується як через поверхню листків, так і через кореневу систему, з подальшим транспортуванням до апікальних зон росту, де локалізується переважно в меристематичних тканинах. У цих ділянках він блокує активність ферменту ацетолактатсинтази (ALS). Завдяки такому специфічному механізму дії імазамокс вважається високоефективним гербіцидом з широким спектром цільових об'єктів.

Наукові дані свідчать, що гербіциди, зокрема імазамокс, здатні чинити вплив не лише на вищі рослини, для яких вони були первинно розроблені, але й на водорості — ключову складову прісноводних екосистем, що відіграє провідну роль у формуванні первинної продукції. Подібність біохімічних шляхів у водоростей і судинних рослин, зокрема участь ферменту ацетолактатсинтази (ALS) у процесах біосинтезу амінокислот, зумовлює їхню потенційну чутливість до дії гербіцидів ALS-інгібуючої дії (Staley et al., 2015). Внаслідок застосування таких агрохімікатів може спостерігатися гальмування ростових процесів у мікроводоростей, порушення їхнього метаболізму, а в окремих випадках — прояв

виражених токсичних ефектів, що, своєю чергою, призводить до змін у структурі та функціонуванні водних біоценозів. У цьому контексті подальше вивчення чутливості водоростей до гербіцидів є важливим кроком для об'єктивного оцінювання екологічної безпеки хімічних засобів захисту рослин (Huang et al., 2024).

З позиції екотоксикологічного аналізу мікроводорості розглядаються як чутливі та надійні біоіндикатори, здатні відображати рівень антропогенного навантаження на водні екосистеми. У цьому контексті широко застосовуються стандартизовані підходи, зокрема тести, рекомендовані Організацією економічного співробітництва та розвитку (OECD), у межах яких модельним об'єктом виступає зелена мікроводорість *Desmodesmus subspicatus* (раніше класифікована як *Scenedesmus subspicatus*). Обрання цього виду зумовлене не лише його екологічною репрезентативністю, але й технічною зручністю — зокрема, здатністю до стабільного культивування в різних середовищах і легкістю інтерпретації результатів, що робить його придатним для регламентованих токсикологічних випробувань (Ceschin et al., 2021). Ймовірно, що інші представники родини *Scenedesmaceae* можна застосовувати як біоіндикатори для оцінки стану гідроекосистем.

Метою роботи було вивчення реакції мікроводорості *Desmodesmus armatus* на присутність імідазолінового похідного (імазамоксу) у водному середовищі.

Матеріали та методи. Матеріалом у даній роботі слугувала альгологічно чиста культура *Desmodesmus armatus*, отримана з колекції кафедри біохімії та біотехнології Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Даний вид є типовим представником прісноводного фітопланктону, чутливим до дії різних полютантів, тому широко застосовується як тест-об'єкт у токсикологічних дослідженнях водного середовища.

У дослідженні використовувався гербіцидний препарат «Євролайтинг» виробництва BASF – системний післясходовий гербіцид на основі похідних імідазолінону. Його діючими речовинами є імазамокс (33 г/л) та імазапір (15 г/л). Препарат застосовували у вигляді водних розчинів з відповідним перерахунком на концентрацію імазамоксу як основного активного інгібітора ацетолактатсинтетази (ALS), до якого найбільш чутливі зелені водорості.

Для оцінки токсичності використовували такі концентрації імазамоксу: 0,01 мг/л; 0,06 мг/л; 0,1 мг/л; 1,0 мг/л; 2,5 мг/л; 5,0 мг/л; 10,0 мг/л. Таким чином, було охоплено діапазон низьких і середніх рівнів забруднення, які можуть формуватися у водоймах у результаті сільськогосподарського стоку після обробки полів. Концентрації гербіциду для експерименту були обґрунтовано підібрані на основі аналізу актуальних літературних джерел, що висвітлюють токсичність похідних імідазолінонів для мікроводоростей.

Динаміку росту культури *Desmodesmus armatus* оцінювали шляхом підрахунку клітин у об'ємі 2 мл культуральної суспензії. Підрахунок здійснювали за допомогою камери Фукса–Розенталя з використанням тринокулярного мікроскопа Micromed XS–3300. Початкова кількість клітин в інокуляті становила $1{,}5 \times 10^6$ кл/мл. Експозиція тривала 14 днів, а підрахунок клітинної чисельності здійснювали з інтервалом у 3 доби.

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали із використанням програмного забезпечення Microsoft Excel. Було розраховано середні арифметичні значення та стандартні відхилення. Статистичну достовірність відмінностей оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента, вважаючи результати вірогідними при рівні значущості $p \leq 0{,}05$.

Результати та обговорення. *Desmodesmus armatus* розглядається як перспективний модельний організм для екотоксикологічного аналізу внаслідок поєднання таких властивостей, як інтенсивне зростання та здатність адаптуватися до широкого спектра умов культивування, що забезпечує його придатність для стандартизованих тестових систем (Wang et al., 2019). У рамках оцінювання токсичної дії гербіцидів основним показником чутливості подібних мікроводоростей найчастіше слугує їхня ростова активність, яка дозволяє кількісно відобразити негативний вплив хімічних агентів. З огляду на те, що водорості виконують функцію первинних продуцентів у трофічних сітках прісноводних екосистем, навіть помірні токсичні ефекти пестицидів можуть мати низку вторинних екологічних наслідків, що проявляються на вищих рівнях харчового ланцюга (Narayanan et al., 2024). Так, нами відмічено, що у контролі без додавання гербіциду, *D. armatus* демонструвала стабільне зростання щільності клітин: від $1{,}57 \times 10^6$ кл/мл до $3{,}85 \times 10^6$ кл/мл на 14 добу експерименту. Це свідчить про сприятливі умови середовища та відсутність інгібуючих факторів, що забезпечило високу життєздатність культури.

У зразках, до котрих додавали гербіцид, чітко спостерігалася залежність реакції

водоростей від його концентрації. При найменшій концентрації (0,06 мг/л) вже на 3 день відзначалося посилення росту: кількість клітин збільшилась до $2{,}85 \times 10^6$ кл/мл, а на 6 день досягла максимуму — $3{,}28 \times 10^6$ кл/мл. Такий ефект, ймовірно, виник через те, що невелика кількість гербіциду стимулювала активність клітин або запускала внутрішні захисні процеси, які допомогли їм швидше рости на початковому етапі.

Концентрації в межах 0,1–1 мг/л не викликали помітного стимулювання росту клітин. Популяція залишалась відносно стабільною до 6–9 дня, після чого спостерігалося поступове зниження кількості клітин або збереження на нижчому рівні порівняно з контролем. Такий характер змін свідчить про наявність прихованої токсичної дії, яка, ймовірно, пов'язана з порушенням утворення важливих амінокислот (валін, лейцин, ізолейцин), на які впливає імазамокс, пригнічуючи фермент ацетолактатсинтазу (ALS).

При концентраціях 2,5–10 мг/л передбачається максимальний короткочасний ефект токсичної дії, що проявлявся вже на 3 добу у вигляді відсутності вираженого приросту або лише незначного збільшення клітинної популяції, а з 6 доби — різким зниженням її щільності. Це вказує на суттєве порушення фотосинтетичних і метаболічних процесів. У варіантах з концентраціями 0,01–0,1 мг/л на 12–14 добу спостерігалося часткове відновлення росту, ймовірно внаслідок адаптаційних механізмів або розпаду гербіциду в середовищі. Водночас високі дози (5 і 10 мг/л) зберігали пригнічувальний ефект до завершення експерименту, що свідчить про відсутність адаптації.

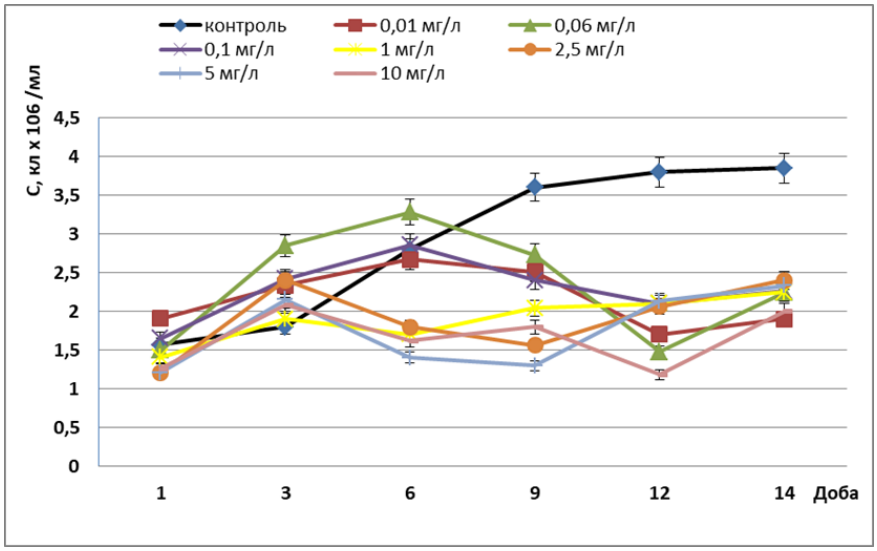

Рис. 1. Кількість клітин у культурі Desmodesmus armatus за присутності імазамоксу

Fig. 1. Cell number in Desmodesmus armatus culture in the presence of imazamox

Висновки. Отже, *Desmodesmus armatus* підтвердив свій статус перспективного модельного організму для екотоксикологічних досліджень завдяки високій ростовій активності та здатності адаптуватися до різноманітних умов культивування. Результати експерименту показали, що дія гербіциду імазамоксу на водорості є чітко концентраційно-залежною: низькі концентрації (0,01–0,1 мг/л) сприяли частковому відновленню росту, ймовірно через активацію внутрішніх захисних або адаптаційних механізмів, у той час як середні концентрації (0,1–1 мг/л) викликали приховану токсичність, прояв якої полягав у поступовому зниженні клітинної щільності порівняно з контролем. Максимальний токсичний ефект спостерігався при високих дозах (2,5–10 мг/л), що супроводжувався суттєвим пригніченням фотосинтетичних і метаболічних процесів і тривалою відсутністю ознак адаптації. Отримані дані підтверджують, що *D. armatus* є чутливим біоіндикатором токсичності гербіцидів на основі інгібіторів ALS, що робить його цінним об'єктом для оцінки екологічної безпеки пестицидів у водних екосистемах.

***Фінансування**: Дослідження проведено за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (грант № 0125U001564).*

***Конфлікт інтересів.** Автори заявляють, що дослідження проводилося за відсутності будь-яких комерційних або фінансових відносин, які можна було б витлумачити як потенційний конфлікт інтересів.*

.

References:

1. Vonk, J. A., & Kraak, M. H. (2020). Herbicide exposure and toxicity to aquatic primary producers. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 250*, 119-171 https://doi.org/10.1007/398_2020_48
2. Grasso, G., Cocco, G., Zane, D., Frazzoli, C., & Dragone, R. (2022). Microalgae-based fluorimetric bioassays for studying interferences on photosynthesis induced by environmentally relevant concentrations of the herbicide diuron. *Biosensors*, *12*(2), 67. https://doi.org/10.3390/bios12020067
3. Onyango, J., van Bruggen, J. J. A., Kitaka, N., Simaika, J., & Irvine, K. (2024). Effects of combined nutrient and pesticide exposure on algal biomass, and Daphnia magna abundance. *Environmental Systems Research*, *13*(1), 1. https://doi.org/10.1186/s40068-023-00326-3
4. Tan, S., Evans, R. R., Dahmer, M. L., Singh, B. K., & Shaner, D. L. (2005). Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, *61*(3), 246-257. https://doi.org/10.1002/ps.993
5. Rojano-Delgado, A. M., Priego-Capote, F., Luque de Castro, M. D., & De Prado, R. (2015). Mechanism of imazamox resistance of the Clearfield® wheat cultivar for better weed control. *Agronomy for Sustainable Development*, 35, 639–648. https://doi.org/10.1007/s13593-014-0232-7
6. Massachusetts Department of Agricultural Resources. (n.d.). *Imazamox*. Retrieved from https://www.mass.gov/doc/imazamox/download
7. Staley, Z. R., Harwood, V. J., & Rohr, J. R. (2015). A synthesis of the effects of pesticides on microbial persistence in aquatic ecosystems. *Critical reviews in toxicology*, *45*(10), 813-836. https://doi.org/10.3109/10408444.2015.1065471
8. Huang, J., Piao, X., Zhou, Y., & Li, S. (2024). Toxicity Assessment of 36 Herbicides to Green Algae: Effects of Mode of Action and Chemical Family. *Agrochemicals*, *3*(2). https://doi.org/10.3390/agrochemicals3020012
9. Ceschin, S., Bellini, A., & Scalici, M. (2021). Aquatic plants and ecotoxicological assessment in freshwater ecosystems: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*, 4975-4988. https://doi.org/10.1007/s11356-020-11496-3
10. Wang, S., Cao, M., Wang, B., Deng, R., Gao, Y., & Liu, P. (2019). Optimization of growth requirements and scale-up cultivation of freshwater algae *Desmodesmus armatus* using response surface methodology. *Aquaculture Research*, 50(11), 3313–3325. https://doi.org/10.1111/are.14290
11. Narayanan, M., Devarayan, K., Verma, M., Selvaraj, M., Ghramh, H. A., & Kandasamy, S. (2024). Assessing the ecological impact of pesticides/herbicides on algal communities: A comprehensive review. *Aquatic Toxicology*, *268*, 106851. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2024.106851

REACTION OF DESMODESMUS ARMATUS TO THE PRESENCE OF IMAZAMOX – AN IMIDAZOLINONE DERIVATIVE

L.M. Cheban, V.V. Andriuk

Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynsky 2 Str.
e-mail: l.cheban@chnu.edu.ua

The study investigated the effect of the herbicide imazamox, which belongs to the class of ALS inhibitors, on the green microalga Desmodesmus armatus. A clear concentration-dependent effect was established: at low concentrations (0.01–0.1 mg/L), partial restoration of cell growth was observed, which may indicate the activation of compensatory mechanisms. In contrast, high doses (2.5–10 mg/L) led to rapid and sustained inhibition of cellular activity.

The results indicate a high sensitivity of D. armatus to imidazolinones and support the suitability of this species as a model organism for assessing the toxicity of herbicides that inhibit acetolactate synthase.

Ключові слова: herbicides, Imazamox, ALS inhibitors, Desmodesmus armatus

Отримано редколегією 15.04.2025

ORCID ID
Лариса Чебан: https://orcid.org/0000-0003-1454-0158