

АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ ИМИДАЗОЛА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ НА *ALLIUM SERA*

© 2009 Е.С. Селезнева

Самарский государственный университет, г. Самара

Поступила 31.01.2009

Обнаружили, что имидазола и его производных способны ингибировать всхожесть и рост корней *Allium sera*, их токсичность коррелировала с величинами молекулярной массы, объема и суммарного дипольного момента имидазолидов. Соединения ингибировали пролиферативную активность и индуцировали хромосомные аберрации в клетках корневой меристемы. Обнаружили отрицательную корреляцию между цитогенетической активностью и величинами молекулярной массы, объема и суммарного дипольного момента.

Ключевые слова: *Allium sera*, имидазолиды, цитотоксичность и мутагенность, корреляция, физико-химические параметры веществ

Основным отличием стратегии выживания растений является их неспособность активно избегать мест с некомфортными условиями жизни, например мест, где присутствуют различного рода ксенобиотиками. Естественный отбор благоприятствовал развитию адаптационных механизмов как физиологических, так и генетических, позволяющих растениям жить и размножаться там, где упали их семена. Генетические адаптации выражаются в появлении мутантов либо резистентных к ксенобиотикам, либо нуждающихся в ксенобиотиках, которые успешно включились в метаболизм растений.

В большинстве случаев биологический эффект действия зависит от скорости проникновения веществ в клетку, последняя определяется строением соединения, его способностью растворяться в липидах мембран или взаимодействовать с рецепторами на поверхности мембран. Несмотря на многочисленные исследования до сих пор не ясна связь между строением соединения, его физико-химическими свойствами и биологическими эффектами их действия.

Мы проанализировали способность имидазола и его производных, отличающихся наличием различных функциональных групп влиять на некоторые физиологические процессы у растений и индуцировать различные хромосомные аберрации.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали биологическую активность имидазола и его метильных и сульфурильных производных, структурные формулы которых представлены на рис. 1.

Семена *Allium sera*, рекомендованного ВОЗ в качестве тест-объекта для анализа мутагенности ксенобиотиков [5], в течение 5 суток проращивали термостате при температуре +22°C в чашках Петри, содержащих водные растворы исследуемых со-

единений в концентрации 0,001 мг/мл (которая не вызывала плазмолиз в клетках эпидермиса лука в течение 30 минут).

Путем подсчета проросших семян определяли влияние соединений на всхожесть, кроме того исследовали влияние веществ на рост корней путем подсчета длины корней проростков.

По стандартной методике готовили давленные и окрашенные ацетокармином препараты меристемы корней. С целью установления митотического индекса подсчитывали число делящихся клеток на различных стадиях митоза. Для подсчета митотического индекса анализировали 1000 клеток для каждого опыта, для оценки способности индуцировать хромосомные аберрации анализировали 900 ана-телофаз [2].

Достоверность различий между действием соединений оценивали с помощью полного двухфакторного дисперсионного анализа. Для выявления связей между физико-химическими параметрами соединений, их токсичностью и мутагенностью был применен корреляционный анализ [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общую токсичность оценивали по способности ингибировать прорастание семян и рост корней. Результаты исследований суммированы на рис.2.

Проведенный полный двухфакторный дисперсионный анализ показал, что все соединения достоверно (для $p < 0,05$) различаются по токсичности. Минимальную токсичность проявил чистый имидазол, а максимальную токсичность N-имидазолидбензолсульфокислоты (ImSO_2Phe).

Корреляционный анализ выявил положительную корреляцию между способностью имидазолидов ингибировать всхожесть и такими физико-химическими параметрами как молекулярная масса ($r_{\text{м.м}} = 0,72$) и молекулярный объем ($r_{\text{м.о.}} = 0,69$). Эти же физико-химические параметры высоко отрицательно коррелировали со способностью соединений влиять на рост корней ($r_{\text{м.м}} = -0,83$; $r_{\text{м.о.}} = -0,83$), кроме того выявили отрицательную корреляцию с величиной суммарного дипольного момента ($r_{\text{д.м.}} =$

Селезнева Екатерина Сергеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии, генетики и общей экологии. E-mail: catana7@yandex.ru.

-0,62). Таким образом, чем выше молекулярный объем и молекулярная масса соединения, тем оно токсичнее.

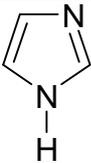
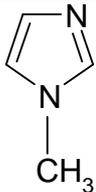
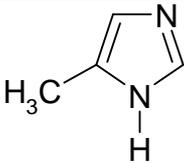
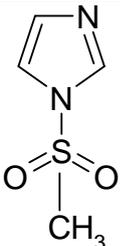
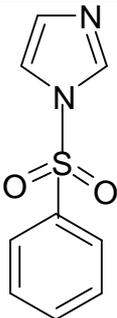
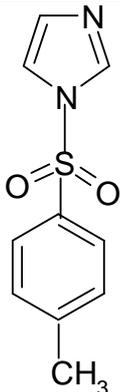
 <p>Имидазол (Im)</p>	 <p>N-метилимидазол (NmeIm)</p>	 <p>C-метилимидазол (CmeIm)</p>
 <p>N-имидазолид метансульфо кислоты (ImSO₂CH₃)</p>	 <p>N-имидазолид бензолсульфо кислоты (ImSO₂Phe)</p>	 <p>N-имидазолид толуолсульфо кислоты (ImSO₂Tol)</p>

Рис.1. Структурные формулы и названия исследуемых имидазолидов

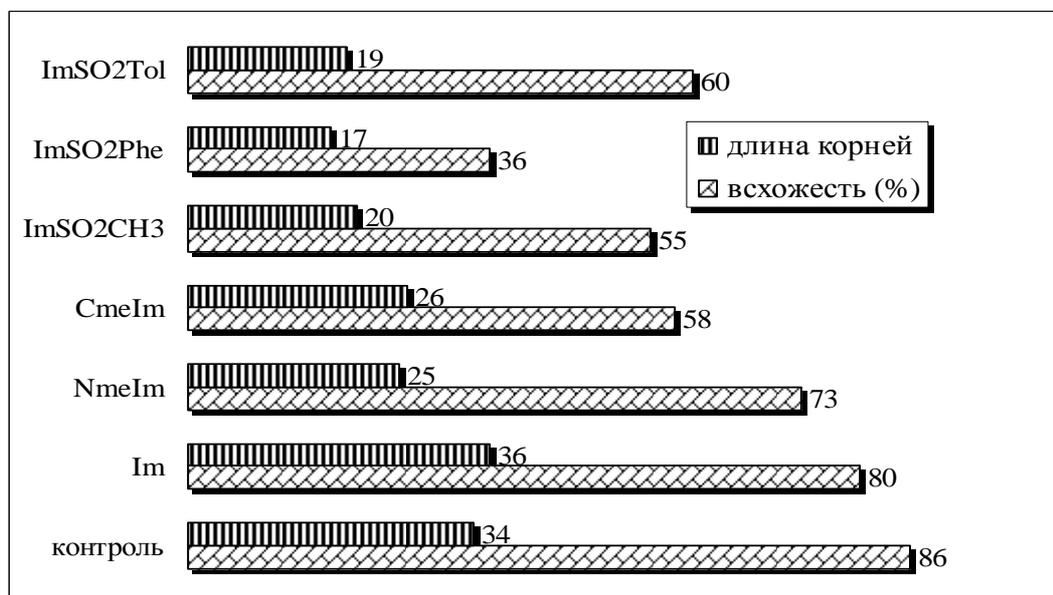


Рис. 2. Влияние имидазолидов на всхожесть семян и рост корней *Allium cepa*

Определяющим фактором роста корней является пролиферативная активность корневой меристемы, поэтому следующим этапом нашего исследования был анализ влияния имидазолидов на вели-

чину митотического индекса. Анализ полученных результатов (см. рис. 3) показал, что все имидазолиды в той или иной степени ингибируют пролиферативную активность, однако максимальной ци-

тотоксичностью обладал С-метилимидазол (CmeIm).

Фазы митоза в клетках корневой меристемы характеризовались различной чувствительностью к действию имидазолидов см. рис. 4.

Как видно из представленных результатов имидазол N- имидазолидметансульфо кислоты и N- метилимидазол (NmeIm) вызывают блок на стадии метафазы, аналог последнего – С-метилимидазол вызывал блок на стадии анафазы. Сульфурильные производные (ImSO₂Phe, ImSO₂Tol), содержащие бензольное кольцо останавливали клеточное деление на стадии профазы.

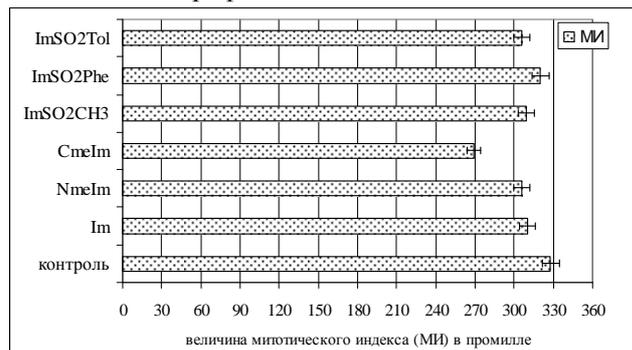


Рис. 3. Влияние имидазола и его производных на величину митотического индекса

По мнению Алова [1], блокировка на стадии профазы говорит о вмешательстве соединений в метаболизм нуклеиновых кислот, а остановка клеточного деления на стадии метафазы – о вмешательстве в метаболизм аппарата, осуществляющего расхождение хромосом к полюсам. Блок на стадии анафазы говорит о повреждении хромосомного аппарата, выражающейся в большом количестве мостов.

Поэтому следующим этапом нашего исследования анализ мутагенности соединений. Результаты исследования суммированы на рис.5. Максимальной мутагенностью обладали С-метилимидазол и N-имидазолид метансульфо кислоты (ImSO₂CH₃), минимальной – N-имидазолидбензолсульфо кислоты (ImSO₂Phe).

Мы выявили, чем меньше величина митотического индекса в корневой меристеме *Allium cepa*, обработанных исследуемыми соединениями, тем выше число aberrантных ана-телофаз ($r=-0,68$).

Корреляционный анализ показал, что величина митотического индекса слабо положительно коррелирует с молекулярной массой соединения ($r=0,5$), а мутагенность отрицательно – с молекулярной массой, молекулярным объемом ($r=-0,6$) и с величиной суммарного дипольного момента ($r=-0,7$) исследуемых ксенобиотиков.

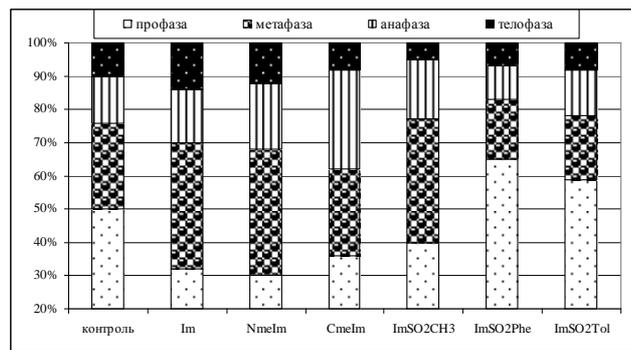


Рис. 4. Влияние имидазолидов на относительную продолжительность фаз митоза корневой меристеме *Allium cepa*.

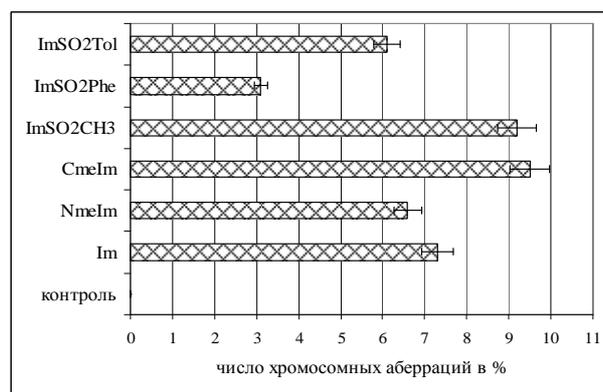


Рис. 5. Способность имидазолидов индуцировать хромосомные aberrации в клетках корневой меристемы *Allium cepa*.

Не выявленная нами корреляция между исследуемыми биологическими активностями и липофильностью является, по нашему мнению, косвенным доказательством того, что соединения проникают в клетку через специальные мембранные рецепторы, и чем сильнее соединение отличается от имидазола тем оно слабее воздействовало на величину митотического индекса.

Полученные нами результаты хорошо согласуются с исследованиями некоторых авторов.

Известно, что в регуляции клеточного деления особая роль принадлежит цитокининам – полифункциональным гормонам, оказывающие влияние на самые разнообразные физиологические процессы [3]. Открыты мембранные рецепторы цитокининов [8]. Эти рецепторы способны воспринимать экзогенные по отношению к клетке цитокинины. По-видимому, мембранные рецепторы имеют слабую избирательность, что дает возможность соединениям, имеющим аналогичную цитокининам активную группу, используемую рецепторами для узнавания (как мы предполагаем имидазол), проникать внутрь клеток влияя на метаболизм цитокининов. В пользу этого предположения свидетельствует работа Chatfield и Armstrong [7] показавших, что экзогенные имидазол и медь-имидазолидные ком-

плексы способны повышать скорость реакции, катализируемой цитокининоксидазой, фермента осуществляющего катаболизм цитокининов [6].

На основании проведенных нами исследований можно предположить, что анализируемые нами имидазолиды, проникая внутрь клеток, влияли на метаболизм цитокининов, осуществляемый цитокининоксидазой, и чем больше имидазолиды отличались от имидазола, тем труднее они проникали внутрь клеток корневой меристемы и меньше вмешивались в процессы регуляции деления клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. М.: Медицина. 1972. 183с.
2. Гостимский С.А., Дьяков М.И., Ивановская Е.В., Монахова М.А. Практикум по цитогенетике. М.: МГУ. 1974 275 с.
3. Кулаева О.Н., Кузнецов В.В. Новейшие достижения и перспективы в области изучения цитокининов // Физиология растений, 2002, Т.49, №4, С.1-15.
4. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа. 1990. 352с
5. Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ / Генетические оценки состояния окружающей среды.51. ВОЗ. Женева. М.: Медицина. 1989. 212с.
6. Симолян М.В., Веселов С.Ю. Цитокининоксидаза: биохимические свойства, механизмы регуляции активности и физиологическое значение //Иммуноанализ регуляторов роста решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии, Материалы III конференции, Уфа, 2000 .-294 с
7. Chatfield J.M., Armstrong D.J. Cytokinin Oxidase from *Phaseolus vulgaris* Callus Tissues: Enhanced in Vitro Activity of the Enzyme I the Presence of Copper-Imidazole Complexes // Plant Physiol. 1987. V.84, P.726-731.
8. Inoue T., Higuchi M., Hashimoto Y., Seki M., Kobayashi M., Kato T., Tabata S., Shinozaki K., Kakimoto T. Identification of CRE1 as a Cytokinin Receptor from *Arabidopsis* // Nature? 2001? V. 409, P.1060-1063

ON THE ANALYSIS OF IMIDAZOLE AND ITS DERIVATES EFFECT ON ALLIUM CEPA

© 2009 E.S. Selesneva

Samara State University

It was shown that imidazole and its derivatives able to inhibit the germination and roots growth of *Allium cepa*. Their toxicity correlated with their molecular weight, volume and total dipole moment. The substances inhibited the proliferative activity and induced the chromosome aberrations in root meristems. The negative correlation connected the cytogenetic activity and parameters of molecular mass, volume and total dipole moments.

Key words: *Allium cepa*, imidazole, cytotoxicity, mutagenic activeness, correlation, physico-chemical parameters