

**ზოგიერთი ფიზიოლოგიური და გენეტიკური ცვლილებების შესწავლა
სოიის(Glicine max (L)Meer) ტესტ-სისტემის გამოყენებით**

ჭითანავა ჟანა

შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ბათუმი

ზარნაძე ნანა

შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი, ბათუმი

<https://doi.org/10.52340/idw.2021.498>

აბსტრაქტი. ადამიანის მიერ სინთეზირებულ ნივთიერებებს შორის გენოტოქსიკური აგენტები-პესტიციდები, განსაკუთრებით საშიშად ითვლება. სოფლის მეურნეობაში გამოყენებული პესტიციდების რაოდენობა ყოველწლიურად იზრდება, გროვდება და ცირკულირებს ბიოსფეროში. პესტიციდების გამოყენებას თან ახლავს მათი ჩართვა კვების ჯაჭვში და ბიომასაში დაგროვება. მათ ახასიათებთ საკმაოდ მაღალი სტრესის ინდექსი და იწვევს გენეტიკურ ცვლილებებს ცოცხალ ორგანიზმებში. ამ საკითხების შესასწავლად შემუშავებულია გამოცდის სხვადასხვა მეთოდი. ბ. პარიკისა და ალ. პოდოკის მიერ შემოთავაზებული იქნა სოიოს გენეტიკური ხაზი, რომელიც შეიცავს ქლოროფილის სინთეზის მაკონტროლებელი გენის მუტაციას. ფოთლებზე გამოვლენილი ლაქების საშუალებით შესაძლებელი იყო რეკომბინოგენური და მუტაგენური აქტივობის შესწავლა და სომატურ უჯრედში გამოწვეული ცვლილებების აღრიცხვა. ამ სისტემების გამოყენებით, ჩვენ პირველად შევისწავლეთ პესტიციდების კარატესა და ბორდოს გავლენა მცენარეთა ზრდა-გაშენების პროცესებზე და მათი გავლენით გამოწვეული გენეტიკური ცვლილებები.

საკვანძო სიტყვები: პესტიციდები, ინსექტიციდები, სოია, ტესტ-სისტემა, გენოტოქსიკური ქსენობიოტიკები, მუტაცია, რეკომბინოგენური აქტივობა.

შესავალი

თანამედროვე მსოფლიოში, ტექნოგენური პროცესების კვალდაკვალ, სოფლის მეურნეობაში გამოყენებული პესტიციდების ასორტიმენტი და რაოდენობა სწრაფად იზრდება, რის გამოც სხვადასხვა სახის ტოქსიკანტი გროვდება ნიადაგში და ცირკულირებს ბიოსფეროში. სხვადასხვა თვალსაზრისით პესტიციდების ფართომასშტაბიან გამოყენებას, თან სდევს მათი ჩართვა კვებით ჯაჭვში, რის საფუძველზეც ხდება მათი აკუმულაცია ინდივიდებში. პესტიციდების საკმაოდ დიდი ნაწილი გენოტოქსიკურობას ავლენს (Charles et.al.2003 Busten et.al.2005) გენოტოქსიკური მოქმედების ქსენობიოტიკების გენეტიკურ აპარატზე მოქმედების მექანიზმები და ეფექტები ნაწილობრივ შესწავლილია. ცოცხალ სისტემაზე გენოტოქსიკური ქსენობიოტიკების მოქმედების სპექტრის ცოდნას უდიდესი მნიშვნელობა ენიჭება, რადგანაც შესაბამისი გამოცდილების საფუძველზე შესაძლებელია დარეგულირდეს პესტიციდების მოხმარების დასაშვები და ლეგალური დოზები, ამით შემცირდება აკუმულაციური ეფექტები ცოცხალ ორგანიზმებში. ამიტომ პესტიციდების მოქმედების სპექტრის შესწავლა განსაკუთრებით ინტერესს იწვევს. ისინი გარემოს გამაჭუჭყიანებელ ფაქტორთა შორის საერთაშორისო რეგისტრში, სტრეს-ინდექსის მიხედვით საკმაოდ მაღალ საფეხურზე დგანან. დღესდღეისობით აქტუალურია გარემოს გამაჭუჭყიანებელი, გენეტიკურად აქტიური პესტიციდების გამოვლენა, რათა მოხდეს ადამიანისა და სხვა ცოცხალ ორგანიზმთა მემკვიდრული აპარატის დაცვის გზების შემუშავება. პესტიციდების დიდი ნაწილი

მოლეკულური აღნაგობით ძლიერ ახლოს დგანან ბუნებრივ ნაერთებთან. ასეთი ნაერთები განსაკუთრებით საშიშია, ვინაიდან ორგანიზმის იმუნური სისტემის მიერ მისი ამოცნობა და განეიტრალება სწრაფად და სრულფასოვნად ვერ ხერხდება. საქართველოში გამოყენებული პესტიციდების ქიმიური შედგენილობა, ტოქსიკური მოქმედება, გავრცელების გზები განხილულია სპეციალურ სახელმძღვანელოებსა და მონოგრაფიებში. (გორდეზიანი 1991; კვესიტაძე 2000). სამწუხაროდ მათი მოქმედება გენეტიკურ აპარატზე თითქმის არაა გამოკვლეული. ქიმიური და ფიზიკური ფაქტორებით ინდუცირებული რეკომბინოგენური და მუტაგენური აქტივობის შესასწავლად ბ. ვიგმა და ე. პოდოკმა შემოგვთავაზეს სოიას გენეტიკური ხაზი, (Vig, Paddock, 1970) რომელიც შეიცავს ქლოროფილის მასინთეზირებელი გენის მუტაციას. მისი გამოყენებით შესაძლებელია სომატურ უჯრედში ინდუცირებული ცვლილებების აღრიცხვა, რადგანაც გენეტიკური ხაზი ფენოტიპური ეფექტით ხასიათდება. იგი ფლობს ინდიკატორი ხაზის ყველა იმ თვისებას, რაც წაყენება გენეტიკურ ხაზს, რომლითაც მუტაციის დაჭერა უნდა ხორციელდებოდეს. გენეტიკური ხაზი L65-1237 მიღებულია ბ. ვიგისა და ე. პოდოკის მიერ ჯიშ-219-დან. ინდიკატორი, გენეტიკური ხაზის მფლობელი სოია, დიპლოიდი, ჰეტეროზიგოტია, მისი გენოტიპია $Y_{11} y_{11}$. Y_{11} გენი არის ნახევრად დომინანტური და აკონტროლებს ქლოროფილის ბიოსინთეზს. გენი ქრომოსომაშია ლოკალიზებული, რომელიც მონოგენურად მემკვიდრეობს. ჰეტეროზიგოტი-სალათისფერი მცენარიდან მიღებული თესლი იძლევა სამ ფენოტიპურად განსხვავებულ აღმონაცენს: მწვანეს (გენოტიპი $Y_{11} Y_{11}$), სალათისფერი (გენოტიპი $Y_{11} y_{11}$) და ყვითელს (გენოტიპი $y_{11} y_{11}$). (იხ. სურათი 1.) აღმონაცენებს შორის შეინიშნება დათიშვა თანაფარდობით 1:2:1 ამ ტიპის დათიშვა არასრული დომინირებისთვისაა დამახასიათებელი. ყვითელი ფენოტიპის მქონე მცენარეებში არ ხდება ქლოროფილის სინთეზი. მასში არ მიმდინარეობს ფოტოსინთეზი. სოიას ყვითელი აღმონაცენები ლეზნებში არსებული საკვები ორგანული ნივთიერებების ხარჯზე არსებობენ. სამარაგო ნივთიერებების გამოლევის გამო განსხვავებულ სტადიებზე, რომლებიც წინ უსწრებს სალათისფერი აღმონაცენების ინტენსიური ზრდის პროცესებს ისინი ორი მარტივი ფოთლის სტადიაზე ნელ-ნელა კნინდებიან და აღმოცენებიდან დაახლოებით ორი კვირის განმავლობაში იღუპებიან. (Chitanava Zh.et.al 2003) ქიმიური და ფიზიკური ფაქტორებით ინდუცირებული რეკომბინოგენური და მუტაგენური აქტივობის შესასწავლად, სოიაში შემუშავებულია ტესტ-სისტემა მისი გამოყენებით შესაძლებელია სომატურ უჯრედში ინდუცირებული ცვლილებების აღრიცხვა. ამ სისტემების გამოყენებით ჩვენ მიზნად დავისახეთ პესტიციდების (კარატე, ბორდო) ზემოქმედებით გამოწვეული ზოგიერთი მორფოლოგიური და გენეტიკური ცვლილებების შესწავლა. ზემოთ აღნიშნული მიზნებით მისაღწევად დასახული იქნა შემდეგი კონკრეტული ამოცანები:

- . პესტიციდების ზემოქმედება ზოგიერთ ფიზიოლოგიურ მაჩვენებელზე. (თესლების გაღვივება, აღმოცენება და აღმონაცენის ზრდის ინტენსივობა)
- . პესტიციდების ზემოქმედების გავლენა რეკომბინაციის პროცესზე.
- . პესტიციდების მოქმედების გავლენა მუტაციის ინდუქციაზე.



სურ.1 გენოტიპურად განსხვავებული სოიის აღმონაცენები: მწვანე (გენოტიპი Y₁₁ Y₁₁), სალათისფერი (გენოტიპი Y₁₁ y₁₁) და ყვითელი (გენოტიპი y₁₁ y₁₁).

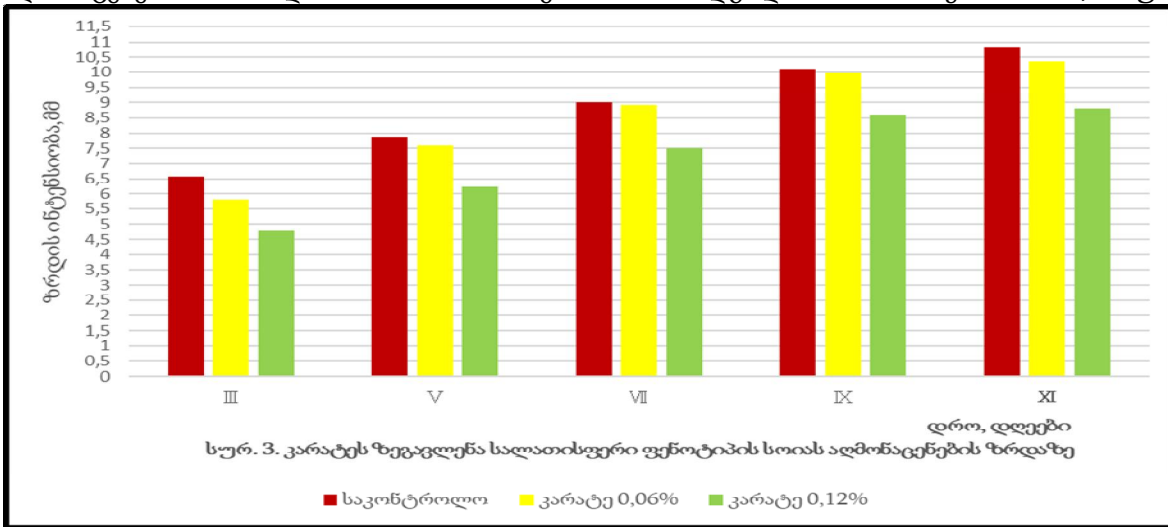
კვლევის ობიექტი და მეთოდები: ჰეტეროზიგოტური მცენარე სოიას თესლები მასაჩუსეტის გენეტიკის დეპარტამენტმა გადასცა აკადემიკოს ი. ზახაროვს. პირველად იგი გაამრავლეს ყარაგანდასა და დუშანბეში 1982 წელს, ხოლო ორი წლის შემდეგ თესლები გადაეცა ა. შათირიშვილს (თბილისი, გენეტიკის კათედრა). მცენარე აკლიმატიზებულია თბილისში და გამოიყენება სამეცნიერო და სასწავლო პროცესებში (ა. შათირიშვილი, ი.ჭუჭულაშვილი 2003) 2003 წლიდან მცენარე აკლიმატიზებულია აჭარის რეგიონშიც. იგი ადვილად შეეგუა სუბტროპიკულ პირობებს და უხვად იკეთებს თესლებს. სოიის ჰაერმშრალი თესლები დამუშავდა პესტიციდების კარატეს და ბორდოს 0,06%-იანი და 0,12%-იანი კონცენტრაციის პრეპარატებით. ბორდოს (CuSO₄·x7H₂O) ნარევი წარმატებით გამოიყენება წყლის სოკოვანი დაავადებების წინააღმდეგ, როგორცაა ჭრაქი, სიხუჭუჭე, კლასტეროსპორიოზი, მონილიოზი, ფიტოფტოროზი და სხვა. პრეპარატის 2-3%-იანი ხსნარი წარმატებით გამოიყენება ვენახში, ხეხილში და ციტრუსებში, ადრე გაზაფხულზე კვირტების მაქსიმალური დაბერვის ფაზაში, მოზამთრე სოკოვანი დაავადებების წინააღმდეგ. მისი გამოყენება ხელს უწყობს ბიო მეურნეობის განვითარებას. რაც შეეხება კარატეს-პირეტროიდული ინსექტიციდია, გამოიყენება სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მავნებლების ფართე სპექტრისგან დასაცავად, აგრეთვე საყოფაცხოვრებო ობიექტებისა და სასაწყობე შენობა-ნაგებობებს დეზინფექციისთვის.

პრეპარატის ზემოქმედებას ვახდენდით 24 სთ-ის ექსპოზიციით. ზემოქმედების შემდეგ პრეპარატის მოცილების მიზნით თესლები ირეცხებოდა გამდინარე ონკანის წყლით 24 სთ-ის განმავლობაში. დამუშავებული თესლები დაითესა აპრილის შუა რიცხვებში. მიღებულ აღმონაცენებში შესწავლილი იქნა აღმოცენების სიხშირისა და ზრდის ტემპები, ასევე აღმონაცენების სამი მარტივი ფოთლის სტადიაზე, ბინოკულარული მიკროსკოპის მეშვეობით აღრიცხულ იქნა ლაქები და გაანალიზდა შედეგები. სალათისფერ მცენარეთა ფოთლებზე ინდუცირდება სამი ტიპის ლაქები: მწვანე, (სურ.2) ყვითელი და ორმაგი (ლაქის ერთი ნახევარი ყვითელია მეორე კი მწვანე). ყვითელი და მწვანე ლაქების წარმოქმნა შეიძლება გამოწვეული იყოს წერტილოვანი მუტაციით. მწვანე მცენარეთა ფოთლებზე წარმოიქმნება სალათისფერი და ყვითელი ლაქები. მათი წარმოქმნის მიზეზია პირდაპირი მუტაციები. იგი შეიძლება ინდუცირდებოდეს, როგორც ქრომოსომებში ისე ქლოროპლასტში ლოკალიზებულ დნმ-ში მომხდარი მუტაციით. ყვითელი მცენარეების ფოთლებზე კი ხდება სალათისფერი ან მწვანე ლაქების ინდუქცია. ლიტერატურიდან ცნობილია რომ მსგავსი ტიპის ლაქების ფორმირება ახლად ინდუცირებული შებრუნებული მუტაციების-რევერსიების შედეგია.



სურ.2. მწვანე ლაქები ფოთოლზე

შედეგები და მსჯელობა: განსხვავებული გენოტიპის სოიას აღმონაცენებმა პესტიციდების მიმართ განსხვავებული მგრძობელობა გამოავლინეს. მაღალი რეზისტენტულობა აღენიშნებოდათ ჰეტეროზიგოტური (Y₁₁Y₁₁) გენოტიპის მცენარეებს. აღმოცენების პროცესზე მკვეთრად მაინჰიბირებელი გავლენა გამოავლინა კარატეს 0,12%-იანმა პრეპარატმა, ხოლო ბორდოს 0,06%-იანმა მცირედ დათრგუნა აღმოცენების პროცესი. საინტერესოა, რომ კარატეს 0,06%-იანმა პრეპარატის მოქმედებამ არ გამოავლინა დამთრგუნველი ეფექტი და თითქმის არ ჩამორჩებოდა საკონტროლო ვარიანტს. ძირითადად შენარჩუნებული იყო „დოზა-ეფექტის“ ფენომენი. რაც შეეხება აღმონაცენების ზრდას კარატეს გავლენა სალათისფერი სოიის აღმონაცენების ზრდაზე, მცირედ მაინჰიბირებელი იყო ვიდრე მწვანე მცენარეებში, ხოლო მე-5 დღიდან მე-9 დღის ჩათვლით კარატის 0.06%-იანი პრეპარატით მოქმედებისას აღმონაცენების ზრდის ინჰიბირებას ადგილი არ ჰქონია. (იხ.სურ.3)



სურ. 3. კარატეს ზეგავლენა სალათისფერი ფენოტიპის სოიას აღმონაცენების ზრდაზე

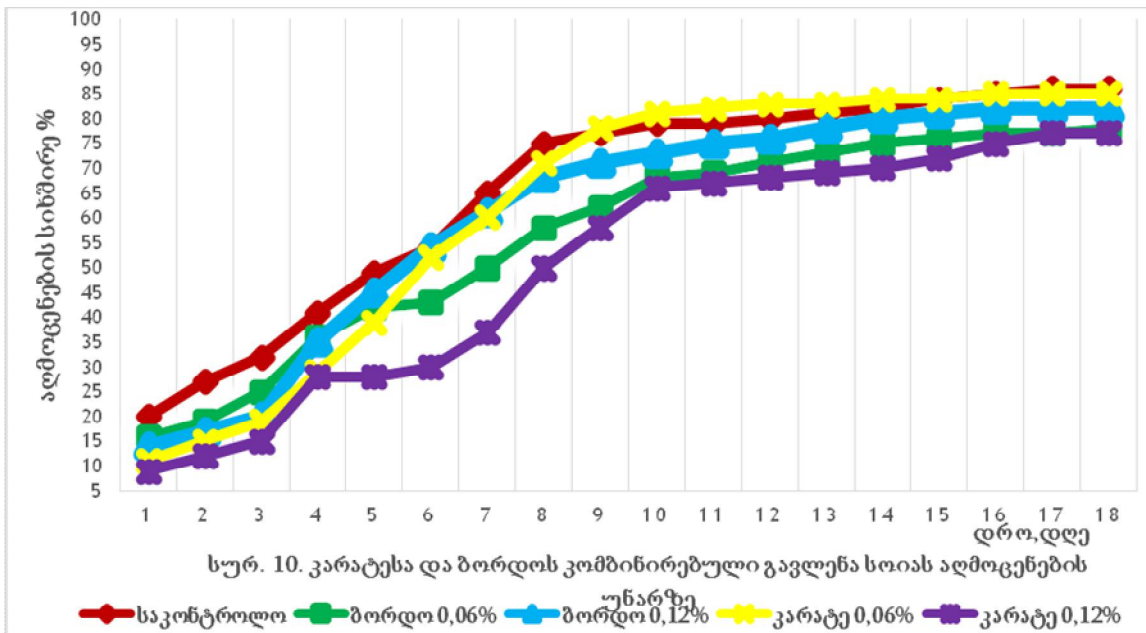
ინსექტიციდების გამოყენებული დოზებიდან არცერთმა რეკომბინოგენური აქტივობა არ გამოავლინა ანუ ადგილი არ ჰქონია მიტოზურ კროსინგოვერს. თუმცა ჰეტეროზიგოტულ ინდივიდებში ფიქსირდებოდა, როგორც ყვითელი ასევე მწვანე მარტივი ლაქები, რომელიც პირდაპირი და რევერს მუტაციის შედეგია. (ცხრილი 1)

ცხრილი 1. გაანალიზებული მცენარეების ზოგიერთი მახასიათებლები

ნივთიერებათა კონცენტრაცია%	განალიზებული ფოთლების საერთო რაოდენობა	ლაქების საერთო რაოდენობა	ყვითელი ლაქების საშუალო რაოდენობა ერთ ფოთოლზე	სალათისფერი ლაქების საშუალო რაოდენობა ერთ ფოთოლზე	ლაქების საშუალო რაოდენობა სულ ერთ ფოთოლზე
ბორდო 0,06	59	3± 0.2	0	0.05± 0.003	0.05± 0.003
ბორდო 0,12	53	4± 0.3	0	0.07± 0.004	0.07± 0.004
კარატე 0,06	57	10± 0.6	0.12± 0.008	0.05± 0.003	0.17± 0.011
კარატე 0,12	58	9± 0.5	0.03± 0.002	0.12± 0.008	0.15± 0.010

ჰომოზიგოტურობის შემთხვევაში (Y_{11} Y_{11}) ინდუცირდებოდა გაცილებით მეტი სალათისფერი ლაქები, ვიდრე ყვითელი, რაც პირდაპირი მუტაციების შედეგია. ამდენად შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ჩვენ მიერ შესწავლილ პესტიციდებს არ აღენიშნებოდათ ძლიერი მუტაგენური მოქმედება.

აღმოცენების ტემპზე პესტიციდებმა: კარატემ და ბორდომ, ეტაპობრივად განსხვავებული ეფექტები გამოიწვია. ჩვენს მიერ კარატეს გამოყენებულმა დოზებმა (0,06%, 0,12%) საბოლოო ჯამში მნიშვნელოვნად დათრგუნა აღმოცენების ტემპი და აღმოცენებულ მცენარეთა რაოდენობა შესაბამისად აღმოჩნდა 15% და 12%. საკონტროლო ვარიანტში აღმოცენებულ მცენარეთა რაოდენობა იყო 27%. აღმოცენების პროცესი შედარებით მალე დასრულდა 0,06%-იანი პრეპარატის მოქმედებისას (მე-16 დღეს აღმოცენებულ მცენარეთა რაოდენობა 85%-იყო). პრეპარატ კარატეს ჩვენს მიერ გამოყენებული კონცენტრაციები ძლიერი ტოქსიკური ეფექტით არ ხასიათდებოდა. როგორც აღინიშნა 0.06%-იანმა კონცენტრაციამ მცირედ მასტიმულირებელი ეფექტიც კი გამოავლინა.



საბოლოოდ აღვნიშნავთ, რომ სოიაში შემუშავებულმა ტესტ სისტემამ საცდელი პესტიციდების მიმართ საშუალო მგრძობელობა გამოავლინა. აღმოცენების პროცესზე მკვეთრად მაინჰიბირებელი გავლენა გამოავლინა კარატეს 0,12%-იანმა პრეპარატმა, ხოლო

ბორდოს 0,06%-იანმა ხსნარმა მცირედ დათრგუნა აღმოცენების პროცესი. საინტერესოა, რომ კარატეს 0,06%-იანმა ხსნარმა დაბალი ინტენსივობით მასტიმულირებელი გავლენაც კი გამოიწვია აღმოცენების პროცესზე. ძირითადად შენარჩუნებული იყო „დოზა-ეფექტის“ ფენომენი. პესტიციდების მოქმედებას მცენარის ზრდის პროცესებზე მცირედ მაინჰიბირებელი ეფექტი ჰქონდა. აღმონაცენის ზრდის პროცესები დათრგუნა კარატეს ყველა კონცენტრაციამ. რაც შეეხება ბორდოს ხსნარს მე-5 და მე-7 კვირას მასტიმულირებელი ეფექტი მოგვცა. საერთო ჯამში საკონტროლოსთან შედარებით ზრდის შეფერხება სახეზე იყო. „დოზა-ეფექტის“ ფენომენი შენარჩუნებულია ორივე პესტიციდის ყველა დოზაში. განსხვავებული გენოტიპის სოიას აღმონაცენებმა პესტიციდების მიმართ განსხვავებული მგრძობილობა გამოავლინეს. მაღალი რეზისტენტულობა აღენიშნებოდათ ჰეტეროზიგოტური გენოტიპის მცენარეებს. ინსექტიციდების გამოყენებული დოზებიდან არცერთმა რეკომბინოგენური აქტივობა არ გამოავლინა ანუ ადგილი არ ჰქონია მიტოზურ კროსინგოვერს. თუმცა ჰეტეროზიგოტულ ინდივიდებში ფიქსირდებოდა, როგორც ყვითელი ასევე მწვანე მარტივი ლაქები, რომელიც პირდაპირი და რევერს მუტაციის შედეგია. ჰომოზიგოტურობის შემთხვევაში ინდუცირდებოდა გაცილებით მეტი სალათისფერი ლაქები, ვიდრე ყვითელი, რაც პირდაპირი მუტაციების შედეგია. ამდენად ჩვენს მიერ შესწავლილ პესტიციდებს არ აღენიშნებათ ძლიერი მუტაგენური აქტივობა და რეკომენდაციას ვუწევთ სასოფლო სამეურნეო თვალსაზრისით მათ აქტიურ გამოყენებას.

ლიტერატურა:

- გორდუზიანი მ. , კვესიტაძე გ. ეკოლოგიის ქიმიური საფუძვლები 2000.
- შათირიშვილი ა. ჭუჭულაშვილი ი. სამედიცინო ბიოლოგია თბ. 2002.
- Дубинин Н.П. Мутагены среды и наследственность человека. Труды избр. Науч. Исслед. Т.2Ю. 2000
- Дурмишидзе С.В. Биохимия растений и охрана окружающей среды. В сб. Биотрансформация ксенобиотиков в растениях Тб. Мецნიერება 1988 4-7
- Busten S., Beudot F., McInnes B, Pesticide and noxious weed newsletter, Erop insights; Asian soybean rust; fungicides. 2005, v15, 2, 37-42.
- Charles J. M., Cifone M. A., Lawlor T., Mrli H., Young R., Leeming N.M., Evaluation of the in vitro genetic toxicity of 4 (2,4-ichlorophenoxy) butyric acid. Mutat. Res., 2003. 12, 472(1-2), 75-83.
- Chitanava Zh., Bazatashvili N., Shatirishvili A., On GenetikChanges in Somatic cells of. Soybean (Glycine max (L) Merr). Ynducend by the Fungicides Kurozit and Mykal. Ball. Georg. Acad. Sci., 2003, 168, 3, S36-538.

Study of Some Physiological and Genetic Changes Using the Soybean (Glicine max (L) MEER) Test System

Chitanava Zhana

Shota Rustaveli State University, Batumi, Georgia

Zarnadze Nana

Shota Rustaveli State University, Batumi, Georgia

Abstract

Anthropogenic pressure on the biosphere has become a common process of the 21st century. Among substances synthesized by humans, genotoxic agents which include pesticides are considered to be particularly dangerous. The number of pesticides used in agriculture is gradually increasing, accumulating and circulating in the biosphere. The use of pesticides is accompanied by

their involvement in food chains and accumulation in individuals. They are characterized by a fairly high stress index and cause genetic changes in living organisms. Various test methods have been developed to study these issues. B. Wig and Al. Podok suggested a genetic line for soybean containing a mutation of the chlorophyll-synthesizing gene. The genetic line is characterized by a phenotypic effect. Indicator, genetic line owner soybean, diploid, heterozygous, give three phenotypically different sprouts: green (genotype Y11 Y11), lettuce-color (genotype Y11 y11) and yellow (genotype y11 y11). 1: 2: 1 ratio is observed between the sprouts. This type of ratio is typical for incomplete dominance. Through the spots detected on the leaves it is possible to study the recombinogenic and mutagenic activity in soybean induced by chemical and physical factors and to record the induced changes in somatic cell. Using these systems, we first studied the effects of pesticides karate and Bordeaux on plant growth and sprouting processes and the genetic changes induced by their influence. Both pesticides had an inhibitory effect on physiological processes, also, the frequency of direct mutations was determined by the "dose-effect" phenomenon.

Keywords: Pesticides, Insecticides, Soybean, Test system, Genotoxic xenobiotics, Mutation, Recombinogenic activity.

საკვანძო სიტყვები: პესტიციდები, ინსექტიციდები, სოია, ტესტ-სისტემა, გენოტოქსიკური ქსენობიოტიკები, მუტაცია, რეკომბინოგენური აქტივობა.