

ვაზის ენდემური ჯიშების მდგრადობის შესწავლის რადიობიოლოგიური მეთოდი

მიხეილ გოგებაშვილი, ნაზი ივანიშვილი

ი.ბერიტაშვილის ექსპერიმენტული ბიომედიცინის ცენტრის რადიაციული
უსაფრთხოების პრობლემათა ლაბორატორია, თბილისი, საქართველო
gogebashvili@gmail.com

მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში მევენახეობის, როგორც დარგის განვითარება მნიშვნელოვნად არის დამოკიდებული მეურნეობების ხარისხიანი სანერგე მასალით მომარაგებაზე [1,2,3]. გარდა აღნიშნულისა, ქართველი მევენახეების წინაშე განსხვავებული პრობლემებიც იქნეს თავს, რაც განპირობებულია ქართული ვაზის ენდემური ჯიშების სიმრავლითა და მათი აგრობიოლოგიური თავისებურებებით [4,5]. აქედან გამომდინარე, დღის წესრიგში დგება არა მარტო მეურნეობების ჯანსაღი სანერგე მასალით უზრუნველყოფის საკითხი, არამედ ენდემური ჯიშების გადარჩენისა და გავრცელების აუცილებლობაც. ამ მიმართებაში ძირითად პრობლემას საძირე და სანამყენე მცენარე-ტრანსპლანტატების ქსოვილთა შეუთავსებლობა წარმოადგენს. ბიოლოგიური თვალსაზრისით, ნამყენი მცენარე არის უნიკალური ორგანიზმი, რომელიც აერთიანებს ორ ერთმანეთისგან გენეტიკურად განსხვავებულ ინდივიდს. თუ გავითვალისწინებთ, რომ მყნობის დროს თითოეული სამყნობი კომპონენტი თავისი პარტნიორისთვის განსხვავებული და ხშირად "უცხო" გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელია, მაშინ ცხადი გახდება იმ რეაქციითა მრავალფეროვნება, რომლებიც აფერხებენ როგორც მცენარე-ტრანსპლანტატების შეხორცების პროცესებს, ისე მათ სიცოცხლისუნარიანობას. გასაგებია, რომ ქსოვილთა ბიოლოგიური შეუთავსებლობის მექანიზმის სპეციფიკურობა განისაზღვრება ამა თუ იმ ორგანიზმის ტაქსონომიური ადგილმდებარეობით იერარქიაში. ამ საკითხს თუ განვიხილავთ ვაზის საძირესა და სანამყენე ქსოვილების შეუთავსებლობის ჭრილში, აქ იკვეთება მთელი რიგი განსხვავებული პროცესები: საძირესა და სანამყენეს სტრუქტურების ანატომიური შეუთავსებლობა, კალუსოგენეზის განსხვავებული დინამიკა, მცენარე-ტრანსპლანტატების ანტიგენური სტრუქტურების შეუთავსებლობა და სხვა მრავალი ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური პროცესი, ანუ ქსოვილთა ბიოლოგიურ შეუთავსებლობას საფუძვლად უდევს სხვადასხვა სტრუქტურულ-ფუნქციონალურ დონეზე განხორციელებული მოვლენების ერთობლიობა.

აღნიშნულიდან გამომდინარე, განსაკუთრებით მწვავედ დგას ისეთი ეფექტური მეთოდოლოგიების დამუშავების საჭიროება, რომელთაც უნარი შესწევთ შეაფასონ ნამყენის შეხორცების ხარისხი პლანტაციის გასაშენებლად მათი შემდგომი გამოყენების გათვალისწინებით. ამავე დროს აუცილებელია მხედველობაში იქნას მიღებული ნერგების სტრუქტურულ-ფუნქციონალური მდგომარეობა არა მარტო შეხორცების ხარისხის კონსტატაციისთვის, არამედ ხანგრძლივი დროის განმავლობაში მათი სიცოცხლისუნარიანობის პროგნოზირებისთვის. ამ მიზნით ჩვენ მიერ დამუშავდა ნამყენის ხარისხის განსაზღვრის მეთოდიკა, რომელსაც საფუძვლად უდევს შეხორცების ზონაში ქსოვილთა პირველადი ფლუორესცენცია. ცოცხალი ქსოვილის პირველად ფლუორესცენციას, თავისი პოტენციური შესაძლებლობების გამო, უპირატესობა გააჩნია კვლევის სხვა მეთოდებთან შედარებით. ასეთ შესაძლებლობებს შეიძლება მივაკუთვნოთ დაკვირვება ცოცხალ უჯრედებსა და ქსოვილებზე მათი ფიქსირებისა და სპეციფიკური რეაქტივებით დამუშავების გარეშე. საკითხის პრაქტიკული გადაჭრის ასეთი მიდგომა მიზანშეწონილია იმ თვალსაზრისითაც, რომ სხვა მცენარეებისგან განსხვავებით, ვაზი პირველადი ფლუორესცენციის კარგი უნარით ხასიათდება.

ქსოვილთა პირველადი ფლუორესცენციის ინდუქციისთვის ულტრაიისფერი გამოსხივების წყაროდ გამოყენებული იყო "ДРШ-50-3"-ის ტიპის ლამფა ან გამანათებელი ОИ-18 СВД-120 ლამფით. ნათების ინდუქციის ფაქტორს წარმოადგენდა

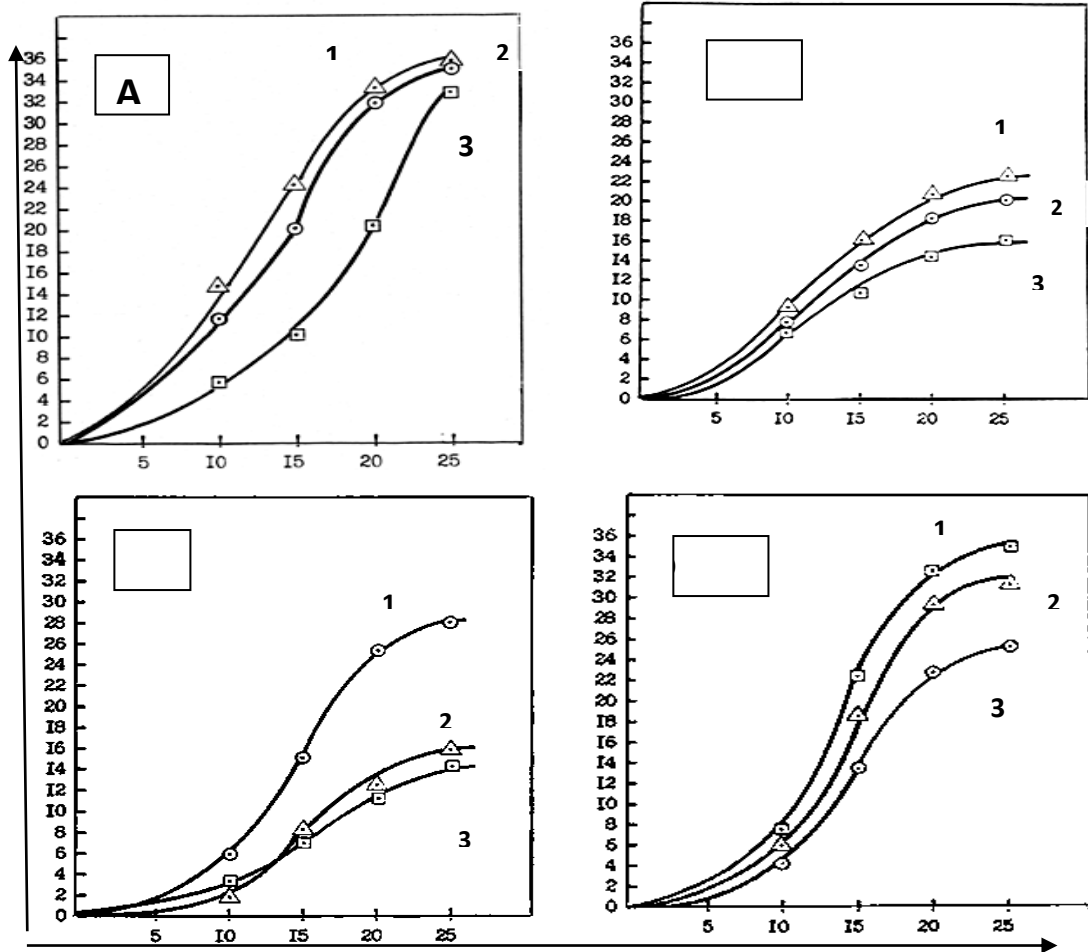
სპექტრის ლურჯიისფერი ნაწილი, რომელიც მიიღებოდა სინათლის ფილტრების კომბინაციით ΦC-1 და ΦC-14, BC-8 და CC-15. მშთანთქმელი სინათლის ფილტრად გამოყენებული იყო JC-18. პირველად ფლუორესცენციაზე დაკვირვება მიმდინარეობდა სინათლის მიკროსკოპით.

ვაზის ქსოვილის პირველადი ფლუორესცენციის ანალიზისთვის მიკროტომზე მიღებული იქნა 15-20 მიკრონის სისქის ანათლები. ანათლის ულტრაიისფერი დასხივების დროს სხვადასხვა ქსოვილი იძლეოდა ფლუორესცენციის სხვადასხვა ნათებას; კერძოდ: ქსილემის უჯრედების ნათება იყო მუქი მწვანე მაშინ, როდესაც უჯრედების კედლები ფლუორესცირებოდა ღია ყვითელი ფერით. პირველადი ფლუორესცენციის სულ სხვა სურათი იქნა მიღებული იმ შემთხვევაში, როდესაც სხივდებოდა უკვე ფორმირებული ნამყენის შეხორცების ზონა. კალმების ფუნქციონალური მდგომარეობის წინასწარი გამოცდა მიმდინარეობდა კალუსის წარმოქმნის ინტენსივობის კრიტერიუმით. ნაშრომში გამოყენებული იყო საქართველოს სხვადასხვა ზონისთვის დამახასიათებელი ვაზის ენდემური ჯიშები. როგორც პირველი სურათიდან ჩანს, მათი უმრავლესობა კალუსოგენეზის სპეციფიკით ხასიათდება (სურ. 1).

ამის შემდგომ მიღებულ იქნა ნამყენები ირიბი კოპულირებით. შედეგებმა გვიჩვენეს, რომ ჯანმრთელი, ნორმალურად ფუნქციონირებადი გამერქნიანებული ქსოვილი იწვევს მკვეთრად გამოხატულ, ყვითელ ფლუორესცენტულ ნათებას. არასიცოცხლისუნარიანი უბნები, ნახეთქები, ნეკროზული ზონები და შეხორცების სხვა ანატომიური და ფუნქციონალური დეფექტები კი ნაკლებად ფლუორესცირებენ. ვაზის ნამყენის შეხორცების ზონაში ქსოვილთა სრული ფლუორესცენტული ნათება დაფიქსირდა, რაც იმაზე მიუთითებს, რომ მოცემულ ნამყენში მოხდა დაზიანებული ქსოვილების სრული აღდგენა და ყველა ქსოვილი ნორმალურად ფუნქციონირებდა. სულ სხვა სურათი მივიღეთ მეორე შემთხვევაში, როდესაც შეხორცების ადგილზე შეიმჩნეოდა მუქი, დაბურული ზონები, რომლებიც მიუთითებენ ნეკროზების არსებობაზე (სურ. 2).

ნამყენში სანამყენეს მკვეთრი ფლუორესცენტული ნათება მიგვანიშნებს ამ ქსოვილების სიცოცხლისუნარიანობაზე, რაც იმას ნიშნავს, რომ სანამყენე კომპონენტებს შორის გამტარი სისტემა სრულად აღდგა. ანალიზის დროს ნამყენში დაფიქსირებული იქნა არაფლუორესცირებადი დაბურული უბნები, სადაც ფართე ნეკროზული ზონა სრულად იზოლირებული იყო, რამაც გამოიწვია სანამყენე ნაწილში საკვები ნივთიერებებით მომარაგების შემცირება. ასეთი ნამყენები, როგორც წესი, ზრდა-განვითარების დაბალი უნარით ხასიათდებიან და უვარგისნი არიან სანერგის გასაშენებლად.

ხშირ შემთხვევაში გვხვდებოდა ნამყენები, რომლებშიც, ერთი შეხედვით, სანამყენე კომპონენტები კარგად იყო შერწყმული და შეხორცების ზონაც ფლუორესცირებოდა, მაგრამ ნამყენის სანამყენე ნაწილში შეიმჩნეოდა სუსტი ნათება და მკვეთრად გამოხატული გამყოფი საზღვარი საძირესა და სანამყენეს შორის. ეს სურათი მიუთითებს სანამყენეს დაბალ სიცოცხლისუნარიანობაზე, რაც სანამყენე კომპონენტებს შორის სუსტი დიფერენცირების შედეგია. არანაკლებ მნიშვნელოვანია ის ფაქტი, რომ ფლუორესცენტული ანალიზის მეთოდი შეიძლება გამოყენებული იქნას ნამყენის ფორმირების უფრო ადრეულ სტადიაზე-სტრატეფიკაციის დროს. ამ შემთხვევაში, შეხორცების პროცესის ნორმალურ მიმდინარეობაზე შეიძლება ვიმსჯელოთ კალუსში ჰიდროციდული ჭიმების წარმოქმნის დონით. ლურჯიისფერი სპექტრით ულტრაიისფერი დასხივება იწვევს ყვითელ ნათებას მაშინ, როდესაც კალუსური არადიფერენცირებული მასა არ ფლუორესცირდება. თუ სტრატეფიკაცია მიმდინარეობს სინათლეზე, წარმოქმნილი ქლოროფილის გამო, კალუსი იძენს წითელ, ხოლო ჰიდროციდული ჭიმები-ყვითელ ფერს.



სურ. 1. ქართული ვაზის ჯიშების კალუსოგენეზის დინამიკა

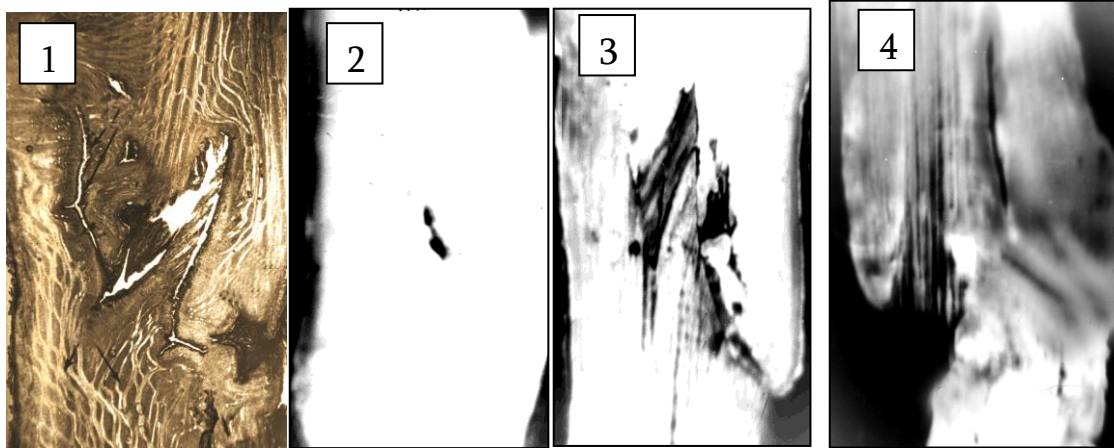
A-კახური ჯიშები: 1- ხარისთვალა შავი, 2-ქისი, 3-ვარდისფერი;

C- რაჭული ჯიშები: 1-ალექსანდროული, 2-მწვანე ონიდან, 3-უსახელოური;

E – ქართლის ჯიშები: 1-ასურეთული, 2-გორულა, 3-ანანურა;

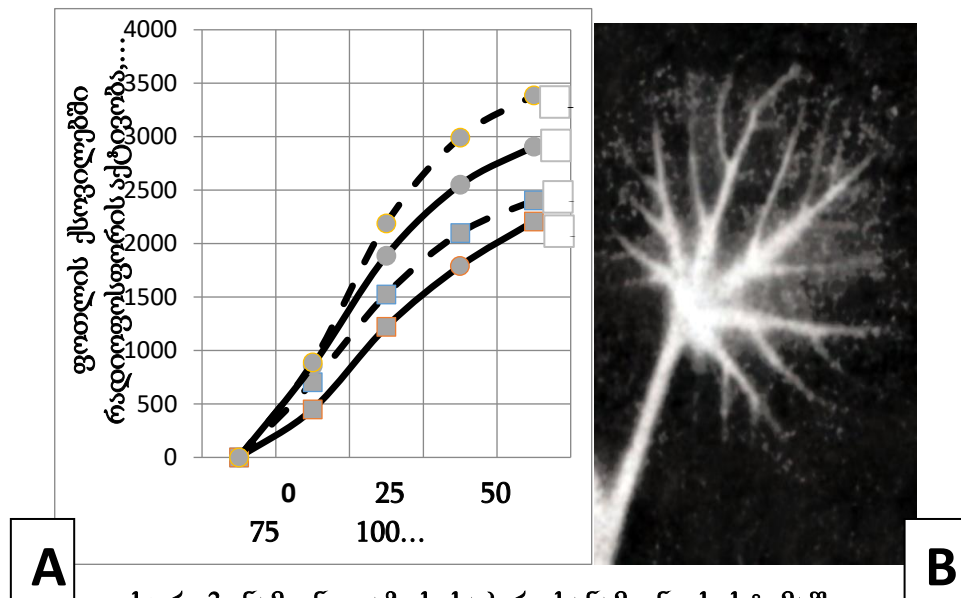
D – მეგრული ჯიშები: 1-პანეში ფოცხოს, 2-ოჯალეში, 3-ზერდაგი

იმისათვის, რომ შეგვემოწმებინა, თუ რამდენად ადეკვატურია ჩვენ მიერ დამუშავებული ხერხი, გამოვიყენეთ ნიშანდებული ატომების მეთოდი (^{32}P იზოტოპით გაჯერებული ხსნარი). იზოტოპის მიგრაციაზე დაკვირვება ხორციელდებოდა რადიოავტოგრაფიით (სურათი-3). მიღებული შედეგები ადეკვატური აღმოჩნდა პირველადი ფლუორესცენციის სურათისა, რაც დამუშავებული ხერხის მაღალ ეფექტურობაზე მიუთითებს. საყურადღებოა, რომ შემოთავაზებული მიდგომა განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მაშინ, როდესაც სხვადასხვა აფინიტეტის მქონე სანამყენე კომპონენტებთან გვაქვს საქმე. ჩატარებული სამუშაოს საფუძველზე შეიძლება გაკეთდეს დასკვნა, რომ ნამყენის სტრუქტურულ-ფუნქციონალური მდგომარეობის ანალიზის მეთოდი, რომელიც ემყარება ქსოვილთა პირველად ფლუორესცენციას, შეიძლება გამოყენებული იყოს როგორც ნამყენის ხარისხის ადრეული დიაგნოსტიკის ეფექტური ხერხი. აღნიშნული ეფექტის გამოყენება საშუალებას მოგვცემს გავამდიდროთ მეთოდების არსენალი ნამყენის დიდი პარტიის შესამოწმებლად, ვაზის გაშენების მიზნით.



სურ. 2. ვაზის ნამყენის შეხორცების ზონის ქსოვილების სტრუქტურულ-ფუნქციონალური მდგომარეობა.

- 1-ნამყენის შეხორცების ზონის ჰისტოლოგიური სურათი (სინათლის მიკროსკოპია);
 2-ნამყენის სრულად აღდგენილი ქსოვილების პირველადი ულტრაიისფერი ნათება;
 3-ნამყენის შეხორცების ზონის საშუალო სტრუქტურულ-ფუნქციონალური დეფექტები;
 4-ნამყენის შეხორცების ზონის ძლიერი სტრუქტურულ-ფუნქციონალური დეფექტები.



სურ. 3. ნამყენი ვაზის საძირე-სანამყენე სისტემაში რადიოიზოტოპური (^{32}P) ხსნარის ტრანსპორტი.

A – ნამყენში რადიოფოსფორის გადაადგილების დინამიკა; B – ვაზის ფოთლის რადიოავტოგრაფი, 1-მაღალხარისხიანი ნამყენის საძირე-სანამყენე სისტემაში რადიოფოსფორის ტრანსპორტის ინტენსივობა (25°C), 4-იგივე, ექსტრემალური ($40-45^{\circ}\text{C}$) ტემპერატურის პირობებში; 2-ნამყენის საძირე-სანამყენე სისტემაში რადიოფოსფორის ტრანსპორტის ინტენსივობა (25°C), 3- იგივე, ექსტრემალური ($40-45^{\circ}\text{C}$) ტემპერატურის პირობებში.

საძირეს და სანამყენეს აფინიტეტით განსხვავებული პარამეტრები დღეისათვის წარმატებით სორცეიდდება საძირეთა მრავალი ფორმის მეშვეობით. მიუხედავად ამისა, ხშირ შემთხვევაში, ვაზის გარკვეულ ჯიშებს უქვეითდებათ გარემოს არახელსაყრელი პირობებისადმი გამძლეობის უნარი, რაც განპირობებულია საძირესა და სანამყენეს შორის კალუსური ქსოვილის დიფერენციაციის შედეგად აღდგენილი გამტარი სისტემის არასრულფასოვნებით. ასეთ დროს მცენარე, ოპტიმალური პირობების შემთხვევაში, ხანგრძლივი დროის განმავლობაში სრულად ინარჩუნებს თავისი სიცოცხლისუნარიანობისთვის დამახასიათებელ ჩვეულებრივ პარამეტრებს, მაგრამ გარემოს ექსტრემალური პირობების შემთხვევაში (მაგ., ექსტრემალურად მაღალი

ტემპერატურა), გამტარი სისტემის აღდგენის უნარის დაქვეითებიდან გამომდინარე, ვითარდება არა მარტო მცენარის ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური პარამეტრების უარყოფითი ცვლილებები, არამედ მცენარის ზონის ქსოვილების ნაწილობრივი ნეკროტიზაცია.

ლიტერატურა

1. Stanko Vršič, Borut Pulko, Laszlo Kocsis. Factors influencing grafting success and compatibility of graperootstocks. *Scientia Horticulturae*, Volume 181, 2, 2015, p.168-173
2. Ali Sabir. Improvement of grafting efficiency in hard grafting grape Berlandieri hybrid rootstocks by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Scientia Horticulturae*, Volume 164, 2013, p. 24-29.
3. Zhong-Xin Jin, Tian-Yu Sun, Hong Sun, Qian-Yu Yue, Yu-Xin Yao. Modifications of 'Summer Black' grape berry quality as affected by the different rootstocks. *Scientia Horticulturae*, Volume 210, 2016, p.130-137
4. Nodar Chkhartishvili Genetic resources of grapevine in Georgia. *Agrobiodiversity of Georgia (Catalog)* Tbilisi, 2015, p.9-33.
5. М.Раишвили. Д.Табидзе. В: Энциклопедия виноградарства. В 3х томах. Кишинев.1987. с.200.

RADIOBIOLOGICAL METHOD OF STUDYING THE STABILITY OF ENDEMIC SPECIES GRAPE

M.E. Gogebashvili., N.I.Ivanishvili

Laboratory of Radiation Safety Problems

I.Beritashvili Center of Experimental Biomedicine, Tbilisi, Georgia.

Summary

From obtained results, it was shown that monitoring of cytodifferentiation processes of callus tissues are possible after pre-grafting radiation processing of grafting components, which active transport of conductive tissues, the last one is a prerequisite to increase plant tolerance to high temperatures. It should be noted that the offering approach is rewarding when the researcher has a goal of maintaining the biodiversity of the endemic species with respect to global warming. If tolerance of non-endemic perennial agricultural crops is resolved through the selection of new drought resistant species, this methodological approach is not acceptable for endemic species, since here is the phenomenon of genetic purity, because phenomenon of genetic purity should be considered.