

## ვაზის ვირუსული დაავადებების კონტროლი აღმოსავლეთ საქართველოს სანერგე მეურნეობებში

ივეტა მეგრელიშვილი, ზურაბ ხიდეშელი, ლევან უჯმაჯურიძე, ნინო ჩიქოვანი  
სსიპ სოფლის მეურნეობის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრი, თბილისი, საქართველო  
Email: z.khidesheli@gmail.com

### შესავალი

ვაზის ვირუსული დაავადებები ფართოდაა გავრცელებული მსოფლიოში. ცნობილია 60-ზე მეტი ვირუსი და ვიროიდი, რომლებიც აინფიცირებენ ვაზის კულტურას [1] და სერიოზულ ზიანს აყენებენ მევენახეობის რეგიონებს [2, 3]. მოსავლიანობის ყველაზე მეტი დანაკლისი დაკავშირებულია GFkV, GFLV, GLRaV-1, GLRaV-3 ვირუსული ინფექციების გავრცელებასთან. ეს ვირუსები ინტროდუცირებულია მევენახეობის უმრავლეს რეგიონში და ვრცელდება სარგავი მასალით ან ინფექციის გადამტანი მწერებით [4,5]. მნიშვნელოვანია ვაზის ვირუსული დაავადებებისადმი რეზისტენტული ჯიშების გამოვლენა. ვაზის გამძლეობა ვირუსული ინფექციების მიმართ დამოკიდებულია მრავალ ფაქტორზე, როგორცაა ვაზის ჯიში, ვეგეტაციის პერიოდი, ნიადაგის ტიპი, გარემო პირობები, ვირუსის სახეობა და სხვა [6, 7].

საქართველოში ვაზის ვირუსული დაავადებები მევენახეობის თითქმის ყველა რეგიონშია გავრცელებული, მაგრამ მათი გამომწვევი პათოგენების შესახებ მონაცემები მწირია. ცნობილია სხვადასხვა ვირუსული სიმპტომი: ადრეული სიწითლე, ფოთლის დახვევა, ლაქიანობა, სიყვითლე და სხვ. ეს მიუთითებს სხვადასხვა ვირუსული ინფექციის მატარებელი მცენარის არსებობაზე, თუმცა ეს ვირუსები არ არის სათანადოდ გამოკვლეული, მითუმეტეს თანამედროვე დიაგნოსტიკური მეთოდებით.

### კვლევის მიზანი

არსებობს მრავალი მიზეზი ვაზის ვირუსული ინფექციების კვლევისათვის: საქართველო წარმოადგენს ერთ-ერთ უძველეს ღვინის მწარმოებელ ქვეყანას. ხარისხიანი ღვინო ჯანსაღი ვენახებიდან იწარმოება, რაც მოითხოვს სერტიფიცირებულ, უვირუსო სარგავ მასალას. მსოფლიოს ყველა წამყვან აგრარულ ქვეყანაში ჯანსაღი, სერტიფიცირებული სარგავი მასალის წარმოებას უდიდესი ყურადღება ექცევა. თანამედროვე სანერგეებსა და სამეცნიერო ლაბორატორიებში იხარჯება უამრავი მატერიალური და ადამიანური რესურსი ხარისხიანი პროდუქციის შესაქმნელად. ხარისხიანი, ჯანსაღი და სერტიფიცირებული ნერგი ერთმნიშვნელოვნად ასოცირდება უვირუსო სარგავ მასალასთან, რადგან მცენარეთა ვირუსული დაავადებები, თავისი სპეციფიკის გამო, წარმოადგენენ იმ უდიდეს რისკ-ფაქტორს, რომლის გათვალისწინების და პრევენციის გარეშე სრულიად შეუძლებელია კონკურენტუნარიანი პროდუქტის მიღება [8]. ინფიცირებული სარგავი მასალა ხელს უწყობს დაავადების გავრცელებას. ძლიერი დასენიანების დროს ვირუსებით მიყენებული ზარალი მეტად მნიშვნელოვანია. დასენიანებული მცენარის ნაყოფებში იცვლება მთელი რიგი ბიოქიმიური მაჩვენებლები, კერძოდ, პექტინის, რედუცირებული შაქრების შემცველობა, მატულობს მჟავიანობა. მნიშვნელოვნად იკლებს დასენიანებული მცენარიდან მიღებული ყურძნით ნაწარმოები ღვინის ხარისხი. ევროპული სასერტიფიკაციო სისტემებით და მცენარეთა დაცვის საერთაშორისო ორგანიზაციის (EPPO) სტანდარტებით განსაზღვრულია ვაზის ვირუსული დაავადებების საკმაოდ ფართო სპექტრი, რომელთა კონტროლიც აუცილებელია ყველა თანამედროვე სანერგე მეურნეობისათვის.

გამომდინარე ზემოთქმულიდან, კვლევის ძირითადი მიზანი იყო ვაზის ვირუსული დაავადებების შესწავლა შიდა ქართლის რეგიონში (სიმპტომები, გავრცელების არეალი), იდენტიფიცირება და უვირუსო სადედე მცენარეების სისტემატიზაცია მათი შემდგომი გამრავლების მიზნით.

### **მასალა და მეთოდები**

2012-2014 წლის ზაფხულში და ადრე შემოდგომაზე მოხდა ვაზის ნიმუშების შეგროვება მცხეთის მუნიციპალიტეტის ჯილაურას და მუხრანის სანერგეებში. სოფლის მეურნეობის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრის ჯილაურას ბაზა წარმოადგენს თანამედროვე ტიპის სპეციალიზირებულ, მოწინავე ტექნოლოგიებით აღჭურვილ საბაზისო სანერგეს, სადაც ხარისხის სრული მონიტორინგის პირობებში ხორციელდება ჯიშურად გარანტირებული, ჯანსაღი სარგავი მასალის მიღება და გამრავლება. ვაზის ჯიშები (რქაწითელი, რქაწითელი ვარდისფერი, ქისი) ტესტირებული იქნა 6 სახის ვირუსზე: ვაზის მუხლთშორისების დამოკლების ვირუსი (GFLV), ვაზის ლაქიანობის ვირუსი (GFkV), ვაზის ფოთლის დახვევის ვირუსი-1 (GLRaV-1), ვაზის ფოთლის დახვევის ვირუსი -3 (GLRaV-3) არაბისის მოზაიკის ვირუსი (ArMV) და ვაზის ვირუსი A (GVA). სულ შემოწმებული იქნა 410 ნიმუში ჯილაურასა და მუხრანის სადედეთა სანერგეში. აქედან 160 რქაწითელი, 130 - რქაწითელი ვარდისფერი, 120 - ქისი. ვაზის ვირუსების (GVA, GFkV, GFLV, GLRaV-1, GLRaV-3, ArMV) შემცველობაზე ტესტირება ხდებოდა იმუნოფერმენტული ანალიზის გზით ორმაგი (DAS-ELISA) ან სამმაგი (TAS-ELISA) ანტისხეულების სენდვიჩის მეთოდით მიკროპლანშეტების ფოსოებში (ტაკაჩის მიერ შემუშავებულ მიკროსისტემაში). მცენარეული ვირუსების იმუნოფერმენტული ანალიზისათვის ვიყენებდით სხვადასხვა მწარმოებელი ფირმის რეაქტივების სტანდარტულ ნაკრებს DAS/TAS-ELISA-თვის.

პირველ ეტაპზე მიკროპლანშეტების ფოსოებში დაიტანება შრატის ვირუს-სპეციფიკური ანტისხეულებით ფოსოების ზედაპირზე მათი აღსორბციის მიზნით (ხსნარის სამუშაო მოცულობა არის 200 მკლ ან 100 მკლ). ინკუბაციის შემდეგ ხდება მათი გამორეცხვა სარეცხი ბუფერით. პლანშეტის ფოსოებში თავსდება მცენარეული მასალის ექსტრაქტი და დადებითი და უარყოფითი კონტროლი. შემდგომ ეტაპზე ხდება მათ გამორეცხვა სარეცხი ბუფერით (სამმაგი ანტისხეულების სენდვიჩის მეთოდის შემთხვევაში ემატება საცდელი ანტისხეულის ხსნარი, შემდეგი ეტაპი ორივე მეთოდისთვის მსგავსია).

მომდევნო საფეხურზე პლანშეტის ფოსოებში თავსდება ხსნარი სპეციფიკური ანტისხეული-ფერმენტის კომპლექსით. ცდის საბოლოო ეტაპზე ინკუბაციის მიზნით ფოსოებში თავსდება ფერმენტის სუბსტრატის ხსნარი. გაზომვების დამუშავება მიმდინარეობს BioTek ELX800 მიკროპლანშეტურ ფოტომეტრზე 405/492 ნმ ტალღის სიგრძეზე. დასკვნით ეტაპზე ხდება მიღებული შედეგების კომპიუტერული ანალიზი.

უნდა აღინიშნოს, რომ ცდის მიმდინარეობის ყველა ეტაპზე ინკუბაციის დრო და ტემპერატურული რეჟიმი განსხვავებულია რეაქტივების სტანდარტული ნაკრების მწარმოებელი ფირმების (BIOREBA AG Switzerland, SEDIAG S.A.S. France, LOEWE Biochemica GmbH) მიხედვით.

### **შედეგები**

გამოკვლევულ იქნა ვაზის სამი ჯიშში: რქაწითელი, რქაწითელი ვარდისფერი და ქისი 6 სახის (GLRaV-1, GLRaV-3, GVA, ArMV, GFkV და GFLV) ვირუსული ინფექციის შემცველობაზე ჯილაურასა და მუხრანის სანერგეებში. ვაზის გამოკვლევულ ჯიშებში ვირუსები ხასიათდებიან სხვადასხვა გავრცელებით. ვიზუალური დათვალიერებით ვაზის ჯიშ რქაწითელში დაფიქსირებულ იქნა სხვადასხვა ვირუსული სიმპტომები (სურ. 1).



სურ. 1. ვაზის ფოთლის დახვევის ვირუსის სიმპტომები რქაწითელში

იმუნოფერმენტული ანალიზის შედეგად რქაწითელში დადასტურებულ იქნა სამი სახის ვირუსული ინფექცია: GFLV (20%), GFkV(15%) და GLRaV-1 (7.5%), ხოლო GLRaV-3, ArMV და GVA ინფექციის არსებობა არ დაფიქსირდა. (ცხრილი1).

**ვირუსული ინფექციის გამოკვლევის შედეგები ვაზში (რქაწითელი)**

**ცხრილი 1.**

ვაზის ჯიში	ვირუსის სახეობა	ტესტირებული ნიმუშები	დადებითი ნიმუშები	
			რაოდენობა	%
რქაწითელი	GFLV	160	32	20
	GFkV	160	24	15
	GLRaV-1	160	12	7.5
	GLRaV-3	160	-	-
	ArMV	160	-	-
	GVA	160	-	-

რქაწითელი ვარდისფერის გამოკვლევამ ჯიდაურასა და მუხრანის სანერგეებში აჩვენა, რომ მსგავსად რქაწითელისა, ყველაზე მეტად გავრცელებულია GFLV ინფექცია (22.3%), ნაკლებად გვხვდება GLRaV-1 და GLRaV-3 - შესაბამისად 8.4% და 2.3%, ხოლო GVA და ArMV ვირუსები არ იქნა აღმოჩენილი (ცხრილი 2).

**ვირუსული ინფექციის კვლევის შედეგები ვაზში (რქაწითელი ვარდისფერი)**

**ცხრილი 2.**

ვაზის ჯიში	ვირუსის სახეობა	ტესტირებული ნიმუშები	დადებითი ნიმუშები	
			რაოდენობა	%
რქაწითელი ვარდისფერი	GFLV	130	29	22.3
	GFkV	130	14	10.7
	GLRaV-1	130	11	8.4
	GLRaV-3	130	3	2.3

	GVA	130	-	-
	ArMV	130	-	-

კვლევის შემდგომ ეტაპზე გამოკვლეული იქნა ქისის 120 ნიმუში და დადგინდა, რომ ვირუსულ ინფექციებს შორის ვაზის სხვა ჯიშების მსგავსად ყველაზე მეტად გავრცელებულია GFLV ვირუსი. აღსანიშნავია, რომ გამოკვლეულ ვაზის ჯიშებს შორის მხოლოდ ქისში იქნა ნანახი GVA ვირუსული ინფექცია (ცხრილი 3).

**ვირუსული ინფექციის გამოკვლევის შედეგები ვაზში (ქისი)**  
**ცხრილი 3.**

ვაზის ჯიში	ვირუსის სახეობა	ტესტირებული ნიმუშები	დადებითი ნიმუშები	
			რაოდენობა	%
ქისი	GFLV	120	26	21.6
	GFkV	120	15	12.5
	GLRaV-1	120	9	7.5
	GLRaV-3	120	7	5.8
	GVA	120	2	1.6
	ArMV	120	-	-

ცნობილია, რომ ვირუსული ინფექციების ერთდროული არსებობა ერთ მცენარეში მნიშვნელოვნად აკნინებს ვაზს და ამცირებს მოსავალს. ჩვენს მიერ აღმოჩენილ იქნა შერეული ინფექცია რქაწითელსა და ქისში, კერძოდ, GFLV/GFkV კომბინაცია 19%-ით გავრცელებულია რქაწითელში, ხოლო 7.5%-ით ქისში (ცხრილი 4).

**შერეული ვირუსული ინფექციები ვაზის ჯიშებში**  
**ცხრილი 4.**

ვაზის ჯიში	შერეული ინფექცია	ტესტირებული ნიმუშები	დადებითი ნიმუშები	
			რაოდენობა	%
რქაწითელი	GFLV/ GFkV	160	31	19
რქაწითელი ვარდისფერი	GFLV/ GFkV	130	-	-
ქისი	GFLV/ GFkV	120	9	7.5

**დასკვნა**

კვლევის შედეგების მიხედვით სხვადასხვა სახის ვირუსული ინფექცია გამოძვლავნდა 36.09 % ტესტირებულ ნიმუშში. ყველაზე მეტად გავრცელებულია GFLV, GFkV და GLRaV-1 ვირუსული ინფექცია - 19,26%, 12,68%, 8,04%, ხოლო დანარჩენი ვირუსები GLRaV-3, GVA ნაკლებად იყო გავრცელებული - 3,66%, 1,21%. აღსანიშნავია, რომ საკვლევ ნიმუშებში აღმოჩენილი იყო შერეული ინფექციები (2 ან 3 ვირუსი), კერძოდ, ნიმუშების 9,8% შეიცავდნენ GFkV და GFLV ვირუსებს. ვირუსული ინფექციის ტიტრი დამოკიდებულია სხვადასხვა

ფაქტორზე: თბილ ზამთარზე, ფიზიკურ დაზიანებაზე, ჰერბიციდებით დაზიანებაზე და სხვა მიზეზებზე.

რეგულარული კონტროლი ვირუსული ინფექციის შემცველობაზე ხელს უწყობს უვირუსო სანერგე მასალის წარმოებას, მონიშნა ვირუსშემცველი და უვირუსო მცენარეები, ასევე ეს კვლევა საფუძველს გვაძლევს შეიქმნას საქართველოში ვირუსების კონტროლის პროგრამა და განვითარდეს ელიტური, სერტიფიცირებული უვირუსო სარგავი მასალის წარმოება, გაფართოვდეს მსგავსი ტიპის სამეცნიერო კვლევები. ჩვენს მიერ ჩატარებული სამუშაო იძლევა რეგიონში ვირუსული ინფექციების იდენტიფიცირებისა და ფიტოსანიტარული მდგომარეობის ზუსტი შეფასების შესაძლებლობას.

მიღებული მონაცემების საფუძველზე, ვაზის ხარისხიანი, უვირუსო სარგავი მასალის წარმოების მიზნით, სოფლის მეურნეობის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტრის ჯილაურას ექსპერიმენტალური ბაზის სანერგეში შეიქმნა ჯანსაღი, უვირუსო სადედე მცენარეების სქემა.

### ლიტერატურა

1. Martelli,G., (2009) “Grapevine virology highlights 2006–2009”, In: le Progres Agricole et Viticole (Ed.), Proceedings of the 16th Meeting of the International Council for the Study of Virus and Virus-like Diseases of the Grapevine. ICVG, Dijon, France, pp. 15–23.
2. Nakaune, R., Toda, S., Mochizuki, M., and Nakano,M., (2008) „Identification and characterization of a new vitivirus from grapevine“. Arch. Virol. 153:1827-1832.
3. Sabanadzovic,S., Abou. Ghanem-Sabanadzovic, Gorbalenya. A.E., (2011)” Permutation of the active site of putative RNA-dependent RNA polymerase in a newly identified species of plant alpha-like virus -1 and -3, Grapevine virus A,Grapevine fanleaf virus and Grapevine fleck virus in field-collected *Vitisvinifera* L.‘Nebbiolo’ by real-time reverse transcription-PCR”, Journal of Virological Methods, vol. 172, Mar, pp. 1–7.
4. Pacifico, D., [Caciagli](#), P., Palmano.S., Mannini,F., and Marzachi, C. (2011), “Quantitation of Grapevine leafroll associated virus-1 and -3, Grapevine virus A,Grapevine fanleaf virus and Grapevine fleck virus in field-collected *Vitisvinifera* L.‘Nebbiolo’ by real-time reverse transcription-PCR”, Journal of Virological Methods, vol. 172, Mar pp. 1–7.
5. Rwahnih,M.Al., Duabert,S., Golino,D., and Rowhani,A., (2009),„Deep sequencing analysis of RNAs from a grapevine showing Syrah decline symptoms reveals a multiple virus infection that includes a novel virus “[Virology](#) 10;387(2), May, pp. 395-401.
6. Gribaudo, I., Gambino, G., Berti, S., Bosco, D., Cotrone, A., and Mannini, F., “Monitoring the spread of viruses after vineyard replanting with heat-treated clones of *Vitisvinifera*‘Nebbiolo’”, J. Plant Pathol. Vol.91, 2009, pp. 633–636.
7. Bovey, R., Gartel, W., Hewitt, W .B., Martelli,G.P., „Vuittenez A. Soil-borne viruses transmitted by nematodes. *Virus and virus-like diseases of grapevine*” Lausanne (Switzerland): Edition Payot, 46-50; 1990.
8. ლევან უჯმაჯურიძე, ზურაბ ხიდეშელი, “ვაზის ჯანსაღი, უვირუსო ნერგი – თანამედროვე მევენახეობისა და მეღვინეობის განვითარების საფუძველი”, ჟურნალი “ახალი აგრორული საქართველო”, იანვარი N1 (21), 2013.

## CONTROL OF VIRAL DISEASES IN EAST GEORGIAN VINE GRAFTED NURSERIES

**Iveta Megrelishvili, Zurab Khidesheli., Levon Ujmajuridze, Nino Chiqovani**

Ministry of Agriculture of Georgia

LEPL Scientific-Research Center of Agriculture

### Summary

Viral agents are considered one of the most common pathogens affecting grape harvesting throughout the world. Viral infections are spread almost in all regions of Georgia, but not properly studied, especially with modern diagnostic methods. The main goal of the research was to study the viral diseases in Georgia, Shida

Kartli region (symptoms, spreading area) for further selection of virus-free mother plants. Survey for the detection of viral agents was conducted from grapevine varieties: Rkatsiteli, Rkatsiteli Pink and Qisi located in vineyards grafted nurseries in the east part of Georgia region of Mtskheta in Jighaura, Mukhrani and other nurseries. Grapevine cultivars were tested for 6 types of viruses according to EPPO standarts: Grapevine Fanleaf Virus (GFLV), Grapevine Fleck Virus (GFkV), Grapevine Leaf Roll Virus-1 (GLRaV-1), Grapevine Leaf Roll Virus-3 (GLRaV-3), Grapevine Virus A (GVA) and Arabic Mosaic Virus (ArMV). Diagnostic was implemented by means of Triple and Double Antibody Sandwich-Enzyme linked Immunosorbent Assay (DAS-ELISA, TAS –ELISA) using monoclonal and polyclonal antibodies and Agristrip Assay. BIOREBA and SEDIAG commercial kits were used for identification.

The results showed that different types of viral infections were accumulated in 36.09% of tested samples. GLRaV-1, GFLV and GFkV virus presence, respectively: 8.04%, 12.68% and 19.26% in collected samples was relatively high comparing to others. GLRaV-3 (1.21%) and GVA (3.66%) infections were in minority, ArMV infection was not found. It should be noted that in the same samples were found mixed infections (2 or 3 types of viruses), particularly 9.8% of samples were containing GFLV and GFkV viruses.

Regular sampling and testing of all vines has provided virus free propagation material in Jighaura and Mukhrani grafted nurseries in Georgia. Based on the obtained data, the scheme of healthy virus free mother plants was created in Jighaura nursery to produce qualitative virus free planting material.