

ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ თუთის ფორმების რეზისტენტობის განსაზღვრა ფლუორესცენციის პარამეტრების გამოყენებით

- ნ. სტეფანიშვილი—სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა დოქტორი,
მ. ბაჩილავა—აგრარული უნივერსიტეტის დოქტორანტი,
ნ. წიკლაური—ილიაუნის დოქტორანტი,
ნ. წიგნაშვილი—ბიოტექნოლოგიის მაგისტრი,
ხ. ტიგინაშვილი—სოფლის მეურნეობის აკადემიური დოქტორი,
თ. ორთოიძე—სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა დოქტორი

საკვანძო სიტყვები: თუთა, ფიტოპლაზმა, რეზისტენტობა, ფიზიოლოგიური პარამეტრები.

რეზიუმე:

წარმოდგენილ ნაშრომში შესწავლილია თუთის ხუთი ფორმის გამძლეობა ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ ფლუორესცენციის პარამეტრების საშუალებით.

აღნიშნულ ფორმებში გამოვიკვლიეთ თუთის ფოთლებში ფოტოსინთეზური პროცესის თავისებურებები-რეაქციული ცენტრების ფს1 და ფს2-ის აქტიურობები, ელექტრონული ტრანსპორტის ინტენსივობა ფოტოსისტემებს შორი-ETR, პიგმენტების (ქლოროფილი A და B, კაროტინოიდები) მნიშვნელობები, ფოთლის გამონაწურში pH-ის მნიშვნელობა და ვიტამინი C-ს შემცველობა.

მიღებულ შედეგებზე დაყრდნობით თუთის ხუთი ფორმიდან, შეგვიძლია გამოვყოთ ფორმა-1, ფორმა-2 და ფორმა 3, რომელთაც გააჩნიათ ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ რეზისტენტობის ყველა მონაცემი.

ლიტერატურული მიმოხილვა:

საქართველოში მეაბრეშუმეობის საკვები ბაზის აღდგენას დიდი რაოდენობით თუთის სარგავი მასალის აღზრდა ესაჭიროება. სარგავი მასალა აუცილებლად წარმოდგენილი უნდა იქნეს მხოლოდ თუთის ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ გამძლე ჯიშებით და ფორმებით.

აღნიშნული დაავადების მიმართ, თუთის ჯიშები და ფორმები განსხვავებულ გამძლეობას იჩენენ. საქართველოში გავრცელებული თუთის ცნობილი სახეობებიდან დაავადებისადმი მაღალი გამძლეობით გამოირჩევა *Morus bombycis* Koidz და *Morus multicaulis* Perr სახეობები. საშუალო გამძლეობას ავლენენ *Morus alba* Linn ჯიშები, ხოლო *Morus Kagayamae* koidz, ან მისი მონაწილეობით მიღებული ჯიშები - მიდრეკილნი არიან დაავადებისადმი (1,2).

თუთის ფიტოპლაზმური დაავადება ფოთლის უჯრედში მიმდინარე რთულ პროცესებთან არის დაკავშირებული. დაავადების სიძლიერე და ინტენსივობა პათოგენისა და მასპინძლის გენოტიპებზეა დამოკიდებული (3). თუ მასპინძლის გენოტიპი ნაკლებ მგრძნობიარეა პათოგენის მიერ გამოყოფილი ტოქსინის მიმართ მცენარე რეზისტენტულად შეიძლება იქნეს შეფასებული (2). მცენარის რეზისტენტობას განაპირობებს აგრეთვე ფოთლის ანატომიური სტრუქტურა და ქიმიური შემადგენლობა. მაგალითად, ფოთლებში სილიციუმისა და ასკორბინის მჟავის ჭარბი შემცველობა(4), რომლებიც დიდ როლს ასრულებენ მცენარეთა იმუნური სისტემის გაძლიერებაში, განსაკუთრებით მაშინ როდესაც ისინი იმყოფებიან სტრესულ მდგომარეობაში (5,6,7). მცენარის იმუნური სისტემისთვის ასევე მნიშვნელოვანია უჯრედის რეაქციის არე-pH.

კვლევებით დადგენდა, რომ უჯრედში მაღალი მჟავიანობა განაპირობებს თუთის მცენარის რეზისტენტობას ფიტოპლაზმის მიმართ (8).

ფიტოპლაზმით დაავადებულ თუთის ფოთლებში ადგილი აქვს ფოტოსინთეზური აპარატის დაზიანებას გარკვეულ დონეზე (9). ამიტომ თუ თუთის რომელიმე ჯიშის ან ფორმის ფოტოსინთეზური აპარატი ხასიათდება მაღალი აქტიურობით და სტაბილურობით, მაშინ ასეთი ფორმა უნდა ხასიათდებოდეს მაღალი რეზისტენტობით ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ.

აქედან გამომდინარე, წარმოდგენილ ნაშრომში შეფასებულია სოფ. ჯილაურას საკოლექციო ბაზაზე გაშენებული თუთის 5 სხვადასხვა ფორმის ფოტოსინთეზური აპარატის გამძლეობა ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ და იდენტიფიცირებულია რეზისტენტული ფორმები.

მეთოდика

აღნიშნული საკითხი დამუშავდა 2019-2022 წლების პერიოდში სოფლის მეურნეობის სამეცნიერო-კვლევითი ცენტში. თუთის ფოთლის ნიმუშები აღებული იქნა სოფ. ჯილაურას სამეცნიერო ცენტრის ბაზაზე არსებულ თუთის საკოლექციო ნაკვეთიდან.

ფოთლის ნიმუშებს ვიღებდით თუთის ფორმა-1, ფორმა-2, ფორმა-3, ფორმა-4 და ფორმა-5-ის ერთწლიანი ნაზარდი ყლორტის შუა ნაწილიდან, რომლებიც წარმადგენენ *Moris alba Linn* და *Moris multikaulis Perr* სახეობებიდან გამოყოფილ ფორმებს.

ფოთოლში პიგმენტების რაოდენობა (ქლოროფილი A და B; კაროტინოიდები) ისაზღვრებოდა სათანადო მეთოდით (10). ნიმუშების ექსტრაქცია მიმდინარეობდა ეთანოლში. პიგმენტების ოპტიმური სიმკვრივე განისაზღვრებოდა სპექტრომეტრის SPECORD 210/Plus (Germany) გამოყენებით.

pH-ის მნიშვნელობა ისაზღვრებოდა თუთის ფოთლის გამონაწურში. ასკორბინის მჟავის ოდენობის განსაზღვრად გამოყენებულ იქნა დიქლორფენოლინდიფენოლით ტიტრაციის მეთოდი (10).

ფოთლის ქლოროპლასტებში ფლუორესცენციის მახასიათებლები ისაზღვრებოდა ფლუორომეტრით PAM -2100 (Waltz, Germany). მინიმალური -F₀, მაქსიმალური-F_m და ვარიანტული- F_v ფლუორესცენციის ინტენსივობები, აგრეთვე ელექტრონების ტრანსპორტის ინტენსივობა ფოტოსისტემებს შორის- ETR ისაზღვრებოდა, როგორც სიბნელეში ადაპტირებულ ფოთლებში, ასევე დაბალი ინტენსივობის წითელი სინათლით განათებულ ფოთლებში. ფლუორესცენციის ფოტოქიმიურ-qP და არაფოტოქიმიურ-qN ჩაქრობა ისაზღვრებოდა წითელი სინათლის ფონზე (11,12).

მიღებული შედეგების განხილვა.

თუთის სხვადასხვა ფორმების ფოთლებში შესწავლილ იქნა ფოტოსინთეზური აპარატის ფლუორესცენციის მახასიათებლები. ამ პარამეტრების ცვლილებიდან გამომდინარე ჩვენ შეგვიძლია შევაფასოთ თუთის ფოთლების გამძლეობის უნარი ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ. მიღებული შედეგები მოცემულია ცხრილში №1.

ცხრილი 1. თუთის სხვადასხვა ფორმის ფოთლების ფლუორესცენციის მახასიათებლები

03.08.21	სიბნელეში		განათებული		განათებული	
ფორმა -1	F ₀	76	F ₀	169	Yield	475
	F _m	296	F _m	285	ETR	18.6
	F _v /F _m	0.743	F _v /F _m	0.408	qP	1.000
					qN	0.280
	სიბნელეში		განათებული		განათებული	
ფორმა-2	F ₀	80	F ₀	199	Yield	523
	F _m	360	F _m	356	ETR	20.6
	F _v /F _m	0.778	F _v /F _m	0.442	qP	1.000
					qN	0.333
	სიბნელეში		განათებული		განათებული	
ფორმა-3	F ₀	70	F ₀	144	Yield	517
	F _m	321	F _m	311	ETR	20.2
	F _v /F _m	0.782	F _v /F _m	0.538	qP	1.000
					qN	0.328
	სიბნელეში		განათებული		განათებული	

ფორმა-4	F ₀	85	F ₀	190	Yield	375
	F _m	294	F _m	291	ETR	14.8
	F _v /F _m	0.711	F _v /F _m	0.348	qP	1.0000
					qN	0.309
	სიბნელები		განათებული		განათებული	
ფორმა-5	F ₀	79	F ₀	150	Yield	472
	F _m	317	F _m	303	ETR	18.4
	F _v /F _m	752	F _v /F _m	0.504	qP	1.000
					qN	0.541

როგორც ცხრილი 1-დან ჩანს, ფლუორესცენციის მაჩვენებლებზე დაყრდნობით ყველაზე კარგი შედეგი გვაქვს ფორმა-1, ფორმა-2 და ფორმა-3-ზე. ვარიაციური ფლუორესცენციის მაჩვენებელი-Fv ყველაზე მდგრადია ამ ნიმუშებში. ანუ დამატებითი განათების ფონზე, Fv-ის მნიშვნელობა ყველაზე ნაკლებად მცირდება, რაც მიუთითებს ფს2-ის ეფექტურობაზე (მედეგობაზე) (13). ამ ფორმებში ასევე ყველაზე მაღალია ელექტრონების ტრანსპორტის ინტენსივობა- ETR ფოტოსინთეზის შორის, რაც მიუთითებს ამ ფორმებში ფოტოსინთეზის მაღალ ინტენსივობაზე (13,14).

ფოტოსინთეზური აპარატის აგებულებასა და ფუნქციონირებაში მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ პიგმენტები: ქლოროფილი A, ქლოროფილი B და კაროტინოიდები (15,16). ამიტომ სწორედ მათი მნიშვნელობები იქნა შესწავლილი თუთის სხვადასხვა ფორმებში. მიღებული შედეგები მოცემულია ცხრილ №2-ში.

ცხრილი 2. პიგმენტების დინამიკა თუთის სხვადასხვა ფორმის ფოთლებში

14.09.2021	ქლორ. A მგ/გ	ქლორ. B მგ/გ	A+ B	A/ B	კაროტინოიდები, მგ/გ
ფორმა-1	1.170	0.258	1.428	4.532	0.941
ფორმა-2	1.778	0.366	2.144	4.861	1.131
ფორმა-3	1.508	0.375	1.882	4.023	0.895
ფორმა-4	1.360	0.268	1.62	5.069	0.829
ფორმა-5	1.185	0.242	1.427	4.895	0.729

როგორც ცხრილი 3-დან ჩანს, ქლოროფილი A-ს ყველაზე დიდი რაოდენობა არის ფორმა 2 და 3-ში. ლიტერატულიდან ცნობილია, რომ ქლოროფილი A-სგან შედგება რეაქციული ცენტრები და ანტენური ქლოროფილი (15,16); ამიტომ ამ პიგმენტის სიმრავლე მიუთითებს ფოტოსინთეზური აპარატის სიმდიერეზე. ფოტოსინთეზური აპარატის დამცავი ფუნქცია აკისრია კაროტინოიდებს, რომელთა რაოდენობის სიმრავლე შეინიშნება ფორმა-1, ფორმა-2 და ფორმა-3-ში, რაც დამატებითად მიუთითებს ამ ფორმებში ფოტოსინთეზური აპარატის მედეგობაზე.

pH -ის მნიშვნელობა ყველა ფორმისათვის თითქმის ერთნაირია და 6,5 – 6,7 ფარგლებში მერყეობს, ანუ ნეიტრალურია.

ასკორბინის მჟავის (ვიტამინი C) შემცველობით უფრო გამოიჩევა ფორმა-1 (138.16 მგ%) და ფორმა-2 (130.26 მგ%). შემდეგ მოდის ფორმა-5 (118.42 მგ%), ფორმა-4 (110.53 მგ%) და ფორმა-3 (106.58 მგ%). ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ გამძლე თუთის ჯიშები ხასიათდებიან ვიტამინი C-ს მაღალი შემცველობით (4).

წარმოდგენილი 5 ფორმის შესწავლამ გვიჩვენა, რომ ფლუორესცენციის პარამეტრებით არ შეგვიძლია დავამტკიცოთ რომელი ფორმებია მათ შორის ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ გამძლე, მაგრამ ერთმნიშვნელოვნად შრომაში აღებული ხუთივე ფორმა ფიზიოლოგიური თვალსაზრისით საკმაოდ ნორმალურად ფუნქციონირებს. თუმცა მათ შორის არსებობს გარკვეული ჯიშური თავისებურებები, რაც შეიძლება დავაკავშიროთ თუნდაც მათ ფარდობით გამძლეობასთან როგორც აბიოტურ ისე ბიოტურ ფაქტორებთან-ჩვენს შემთხვევაში ფიტოპლაზმურ დაავადებასთან. მაგალითად ვიტამინი C უფრო მეტია ფორმა-1 და ფორმა-2-ში, მაგრამ სხვა ფორმებშიც ნორმალურ ფარგლებშია.

ზემოთმოყვანილი მონაცემებიდან გამომდინარე, ჩვენს მიერ შესწავლილი თუთის ხუთი ფორმიდან, შეგვიძლია გამოვყოთ ფორმა-1, ფორმა-2 და ფორმა-3, რომლებშიც შედარებით მდგრადია ფოტოსინთეზური აპარატი, მაღალია ქლოროფილი A-სა და კაროტინოიდების შემცველობა, ასევე მაღალია ვიტამინი C-ს მნიშვნელობა. აქედან გამომდინარე შეგვიძლია ცალსახად ვივარაუდოთ, რომ ეს ფორმები გამორჩეულია რეზისტენტობით ფიტოპლაზმური დაავადების მიმართ; ამიტომ შესაძლებელია ამ ფორმების რეკომენდირება ფერმერებისათვის.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1. Stepanishvili N. The way of revival of sericulture in Georgia. 2019 „Book of abstracts of International Conference „Sericulture Preservation and Revival- Problems and Prospects.” Batumi. Georgia Batumi
2. სამადაშვილი ც. 2014 -მცენარეთა დაცვის სისტემის ზოგიერთი კომპონენტის ბიოქიმიური დახასიათება. ავტორეფერატი ი.ჯავახიშვილის სახ. უნივერსიტეტი. თბილისი.
3. Хомиди Х.С. 2004. Изменение pH среди листа в зависимости от вегетационного периода шелковицы, регулирование кислотной активности корма для тутового шелкопряда. Научные основы решения актуальных проблем шелковой отрасли. Ташкент
4. Epstein E. 2009. Silicon: its manifold roles in plants. *Ann Appl Biol* 155, 155–160.
5. Japaridze T. The Use of Staining Method in Plants For Discover of Micro plasma Bodies. *Proceedings Of Georgian Agriculture Univ., Tb., 1986* (in Georgian)
6. Jiang, H., Wei, W., Saiki, T., Kawakita, H., Watanabe, K. and Sato, M., 2004. Distribution patterns of mulberry dwarf phytoplasma in reproductive organs, winter buds, and roots of mulberry trees. *Journal of General Plant Pathology*, 70, pp.168-173.
7. Shalamberidze D. Selection of new collection starting material of varieties resistant to leaf curl by means of anatomical structure. - Thesis, 1998, Tb. (in Georgian).
8. Gai Y.P. et. Al. metabolomic analysis potential metabolites and pathogenesis involved in mulberry yellow disease plant *Envirzon*, 37. 2014, pp 1474-1490.
9. თორთოიძე, ნ.წიკლაური, ნ.წენგოშვილი, მ.ბაჩილავა, ნ. სტეფანიშვილი. თუთის ფოთლების ფლუორესცენციის პარამეტრების ცვლილებები ფიტოპლაზმური დაავადების დროს. 2023, ს/მ აკადემიის „მომხმე“ (პრესაში).
10. Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярощ В.В. Методы биохимического исследования растений, Ленинград, “Агропромиздат”, 1987, ст. 256 – 275.
11. Schreiber, U., Klughammer, C. and Kolbowski, J., 2012. Assessment of wavelength-dependent parameters of photosynthetic electron transport with a new type of multi-color PAM chlorophyll fluorometer. *Photosynthesis research*, 113, pp.127-144.
12. Ortoidze T. Use of Chlorophyll Fluorescence Methods for the Study of Physiological Condition and Resistance against Abiotic factors of Grapevine, *J. of Agricultural science and Technology*. 6 (2016) 92-97.
13. Kalaji, H.M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I.A., Cetner, M.D., Łukasik, I., Goltsev, V. and Ladle, R.J., 2016. Chlorophyll a fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta physiologiae plantarum*, 38, pp.1-11.
14. Whitmarsh J. Govindjee. Photosystem II. 2002, *Encyclopedia Life of Sciences*, Maccimillian Publishers Ltd, pp. 1 – 13.

15. Filimon, R.V., Rotaru, L. and Filimon, R.M., 2016. Quantitative investigation of leaf photosynthetic pigments during annual biological cycle of *Vitis vinifera* L. table grape cultivars. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 37(1), pp.1-14.
16. Tyutereva E.V., Voytsehovskaya O.V. About the role of chlorophyll B in ontogenetic adaptations of plants. 2014, *Uspehi sovremennoy biologii* (russ), 34(3), pp. 249-256.

Determination of resistance of mulberry forms to phytoplasma disease using fluorescence parameters

N.Stepanishvili-Doctor of Agricultural Sciences,

M.Bachilava-PhD student,

N.Tsiklauri- PhD student,

N.Tsenguashvili-Master of biotechnology,

Kh. Tiginashvili -Academic doctor of Agricultural,

T.Ortoidze-Doctor of Agricultural Sciences.

Key words: Mulberry, phytoplasma, resistance, physiological parameters.

Abstract

In the presented work, the resistance of five mulberry forms to phytoplasma disease was studied using fluorescence parameters.

In these forms, we studied the peculiarities of the photosynthetic process in mulberry leaves - the activities of reaction centers PS1 and PS2, the intensity of electron transport between photosystems-ETR, the values of pigments (chlorophyll A and B, carotenoids), the value of pH in the leaf extract and the content of vitamin C.

Based on the obtained results, from the five forms of mulberry, we can distinguish form-1, form-2 and form-3, which have all the properties of resistance to phytoplasma disease.