



**საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის
სახელობის ქართული უნივერსიტეტი**

ვლადიმერ ბარამიძე

მიმართულება - 05 საბუნებისმეტყველო მეცნიერებები

**დარგი/სპეციალობა - 0504 ბიოლოგია/სიცოცხლის შემსწავლელი
მეცნიერებანი**

**ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად
წარმოდგენილი ნაშრომი**

**საქართველოში გავრცელებული კარტოფილის PVY,PVX,PLRV
ვირუსების და მათი რეკომბინანტული შტამების მოლეკულურ -
ბიოლოგიური დახასიათება**

სამეცნიერო ხელმძღვანელი

პროფ. ნუგზარ ალექსიძე

თბილისი 2017

სარჩევი

ანოტაცია	4
SUMMARY	7
შესავალი	9
1. ლიტერატურული მიმოხილვა	12
1.1 კარტოფილის, როგორც სახეობის მოკლე დახასიათება	12
1.2 კარტოფილის მნიშვნელობა მსოფლიოსა და საქართველოში	14
1.3 საკვლევი რაიონების ბუნებრივი პირობების დახასიათება	16
1.4 ფიტოპათოგენური ვირუსების ზოგადი დახასიათება	18
1.5 კარტოფილის დაავადების გამომწვევი ვირუსების დახასიათება	19
1.6 კარტოფილის M (PVM) ვირუსი	21
1.7 კარტოფილის ფოთლის სიხუჭუჭის ვირუსი (PLRV)	23
1.8 კარტოფილის X ვირუსი	25
1.9 კარტოფილის A ვირუსი	26
1.10 კარტოფილის S ვირუსი	27
1.11 კარტოფილის Y ვირუსი	29
1.12 PVY ვირუსის სასიცოცხლო ციკლი	33
1.13 PVY გენომური ორგანიზაცია	34
1.14 რეზისტენტულობის გენეტიკა	36
1.15 R გენების სტრუქტურა და ფუნქცია	38
1.16 ვირუსის რეზისტენტულობის მექანიზმი	41
1.17 შუალედური რეზისტენტულობის სასიგნალო სისტემა	43
1.18 გაჩუმებული გენები	46
1.19 ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქცია (HR)	46
1.20 ექსტრემალური რეზისტენტულობა (ER)	48
1.21 ინფექციის მიმართ რეზისტენტულობა	51
1.22 რეზისტენტულობა ვირუსების აკუმულაციის მიმართ	52
1.23 ვირუსების გადაადგილების მიმართ რეზისტენტულობა	53
1.24 მტკიცე მცენარეთა რეზისტენტულობა	54
1.25 მცენარეთა ტოლერანტობა დაავადებების მიმართ	54
1.26 რეზისტენტულობა ვირუსული ვექტორის მიმართ	55
1.27 ვირუსული დაავადებების მართვა	57
1.28 სათესლე მასალის სერტიფიცირება	59

2. მასალები და მეთოდები	62
2.1 ნიმუშების შერჩევა და ვირუსების დადგენა.....	62
2.2 ვირუსების იდენტიფიცირება DAS- ELISA მეთოდით	62
2.3 კარტოფილიდან ვირუსული რნმ-ის ექსტრაქცია.....	65
2.4 ოლიგონუკლეოტიდური თანმიდევრობების შერჩევა	65
2.5 კარტოფილის Y ვირუსის რეკომბინანტული შტამების მოლეკულური დიფერენცირება.....	67
2.6 სტატისტიკური ანალიზი	67
2.7 კარტოფილის ჯიშების დახასიათება	67
2.8 სეკვენირება	68
3. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა	73
3.1 კარტოფილის ვირუსების აღმოჩენა DAS-Elisa-ს მეთოდით.	73
3.2 PVY რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია RT- პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია	81
3.3 საქართველოს რეგიონებში გავრცელებული კარტოფილის ვირუსების გენომის სეკვენირება	84
3.4 კარტოფილის ვირუსების იდენტიფიკაცია დუპლექს RT-PCR მეთოდით- 91	
3.5 კარტოფილის ჯიშების რეზისტენტობა რეკომბინანტული შტამების მიმართ	96
3.6 კარტოფილის სათესლე მასალის სერტიფიკაცია.....	92
4. დასკვნები	100
5. გამოყენებული ლიტერატურა	102
6. ANNEXES	120

ანოტაცია

კარტოფილი მსოფლიოში ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული სასოფლო-სამეურნეო კულტურაა. ის ფართოდ გამოიყენება, როგორც საკვებად ისე ტექნიკური მიმართულებით. კარტოფილის წარმოების ზრდა დამოკიდებულია მოსავლიანობის ზრდაზე და ახალი მაღალმოსავლიანი ჯიშების გავრცელებაზე, ამათან ერთად განსაკუთრებული ადგილი უჭირავს კარტოფილის დაავადებების საწინააღმდეგოდ მიმართული ღონისძიებების გატარებას (სერტიფიცირება, რეზისტენტული ჯიშები და დაავადების გადამტანთა კონტროლი). კარტოფილის დაავადებები ფართოდ არის გავრცელებული საქართველოში, მათ შორის გამოირჩევა ისეთი ვირუსული პათოლოგიები, რომლებიც მოსავლიანობას 30-50%-ით ამცირებს. განსაკუთრებით საშიშია ახალი PVY რეკომბინანტული შტამების: PVY^N, PVY^{Nwi}, PVY^{NTN}, PVY^c, PVY⁰ გავრცელება, რომელიც საქართველოში დღემდე შეუსწავლელია. ამასთან ერთად უცნობია არსებობს თუ არა ქვეყანაში მათ მიმართ მდგრადი ჯიშები. ინფექციურ დაავადებებთან ბრძოლის მიზნით ძალზედ ეფექტურია მათი ადრეული გამოვლენა, თანამედროვე და ზუსტი დიაგნოსტიკა მეთოდებით წარმოადგენს თანამედროვე მოლეკულური ბიოლოგიის მნიშვნელოვან პრაქტიკულ ამოცანას.

კვლევის მიზანს წარმოადგენდა საქართველოში კარტოფილის მწარმოებელ ძირითად რეგიონებში (მარნეული, ახალქალაქი, ახალციხე) შეგვესწავლა კარტოფილის ვირუსების: PVY, PLRV, PVX გავრცელების არეალი იმუნოფერმენტული DAS ELISA-ს მეთოდით. პირველად საქართველოში შესწავლილ იქნა PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების PVY^{Nwi}, PVY^N, PVY^{NTN}, PVY^{NA-NTN} და PVY⁰ გავრცელება უკუტრანსკრიფციული პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით (RT-PCR). გარდა ამისა, ჩვენს მიზანს წარმოადგენდა გენომური ფრაგმენტების სეკვენირებით გენეტიკურად დაგვხასიათებინა საქართველოში აღმოჩენილი 2 რეკომბინანტული შტამი. იმისათვის რომ კვლევა ყოფილიყო შედეგზე ორიენტირებული ასევე მიზნად დავისახეთ შეგვექმნა დიაგნოსტიკური ტრიპლექსი

და დუპლექს RT-PCR მეთოდი, რაც საშუალებას გვაძლევს მოვახდინოთ საქართველოში გავრცელებული რეკომბინანტული შტამების ზუსტი და სწრაფი იდენტიფიკაცია. აღსანიშნავია, რომ DAS ELISA მეთოდით PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია თითქმის შეუძლებელია. კვლევის ფარგლებში მიზნად დავისახეთ ანალიზი გაგვეკეთებინა საქართველოში გავრცელებული PVY რეზისტენტული ჯიშებისათვის და დაგვედგინა ამჟღავნებენ თუ არა ისინი რეზისტენტულობას ახლად აღმოჩენილი PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების მიმართ.

კვლევის შედეგი. აღმოჩნდა რომ საქართველოში PVY და PVX ვირუსები ფართოდაა გავრცელებული. PVY ვირუსის ტოტალური დაინფიცირების დონე ქვეყანაში წარმოადგენს 63%-ს. ყველაზე მეტად ინფიცირებული რაიონია ახალციხე - 78%, შემდეგ მარნეული - 61% და ბოლოს ახალქალაქი - 50%. PVX ვირუსი გავრცელების ტოტალური მაჩვენებელი შემოიფარგლა მხოლოდ 13%-ით. ინფექციის ყველაზე მაღალი დონე დაფიქსირდა ახალქალაქში 11%, მარნეულში 2 % ხოლო ახალქალაქის რეგიონში საერთოდ არ აღმოჩნდა. უკუტრანსკრიპციული პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით აღმოჩენილ იქნა PVY ვირუსის მხოლოდ ორი რეკომბინანტული შტამი (PVY^{NWi} - 56% და PVY^N -7%). PVY^{NWi} და PVY^N შტამის გენომური ფრაგმენტის (P1, HC-Pro, P3) სეკვენირებით დადგინდა, რომ აღმოჩენილი შტამები თითქმის 98-100 % ემთხვევა ევროპაში გავრცელებულ რეკომბინანტულ შტამებს. კვლევის შედეგად გამოცდილია სხვადასხვა ოლიგონუკლეოტიდების (Primer) თანმიმდევრობები და შემუშავებულია ტრიტიპლექს და დუპლიპლექს RT-PCR მეთოდი, რაც საშუალებას იძლევა PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების სწრაფი და მაღალი სიზუსტით იდენტიფიკაციის. დადგინდა, რომ PVY ვირუსით ინფიცირებული აღმოჩნდა, როგორც მის მიმართ მდგრადი ასევე არამდგრადი ჯიშები ($P < 0.1$), ქვეყანაში გავრცელებული PVY ვირუსის მიმართ „რეზისტენტული ჯიშები“ არ არიან მდგრადნი ქვეყანაში გავრცელებული PVY რეკომბინანტული შტამების მიმართ.

აღნიშნული კვლევას შედეგები ხელმისაწვდომი, რომ გამხდარიყო ქართველი ფერმერებისათვის, გამოიცა სახელმძღვანელო ფერმერებისათვის, რომელიც გადაეცა საქართველოს საინფორმაციო საკონსულტაციო ცენტრების თანამშრომლებს, რათა ფერმერებს მიეწოდოთ ინფორმაცია და რეკომენდაციები, კარტოფილის ვირუსებზე რეზისტენტული ჯიშების გამოყენებასთან დაკავშირებით.

დისერტაციის მოცულობა და სტრუქტურა. დისერტაცია მოიცავს: შესავალს, კვლევის მასალებსა და მეთოდებს, კვლევის შედეგებს, შედეგების განხილვას, დასკვნებს, გამოყენებული ლიტერატურის სიას (160 წყარო). იგი ილუსტრირებულია 12 ცხრილით და 13 სურათით. ნაშრომის მოცულობა 124 გვერდია.

SUMMARY

Potato is one of the most common agricultural crops in the world. It is widely used as a food and in processing for technical directions. Potato production depends on increasing productivity and the use of new high-yielding varieties. Additionally, special attention is given to the use of integrative disease management strategies, including certification, resistant varieties and vector control. Potato diseases are widespread in Georgia, among them viral diseases are threatening country production. Due to viral infections, the yield of potato can be reduced by 30-50%. From potato diseases especially dangerous are new recombinants of PVY: PVY^N, PVY^{NWi}, PVY^{NTN}, PVY^c, PVY⁰. The spatial and temporal spread of PVY recombinant strains has never been investigated in Georgia. In addition, the country is unknown whether there are resistant varieties. In order to fight infectious diseases are very effective in their early detection, accurate diagnosis and modern methods of modern molecular biology practical task.

Objective - The aim of study was to survey Georgia's major potato-producing regions (Marneuli, Akhalkalaki, Akhaltsikhe) about the presence and distribution of PVY, PLRV, PVX viruses using DAS-ELISA method. Additionally, we tried to investigate incidence of PVY recombinant strain PVY^{NWi}, PVY^N, PVY^{NTN}, PVY^{NA-NTN}, PVY^O (using RT-PCR). At the same time, our goal was to study and genetically characterize recombinant strain identified in Georgia. Within our research, we decided to sequence R1 junction of recombinant strains in order to validate the primers and identify if the strains circulating in Georgia are identical to recombinant strains circulating in different parts of the world. Moreover, we tried to investigate the correlation between recombinant strains and potato cultivars, which carry resistance against PVY.

Results- using DAS-ELISA, we have identified that the most prevalent strains of Potato viruses in Georgia is PVY. The total infection rate of PVY has accounted for 63% which exceeds any modern seed certification limits. The highest incidence rate of PVY was

observed in Akhaltiskhe region. The second virus what we have identified is PVX which had much lower infection rate than PVY (Total 7%). In initial experiments to differentiate PVY recombinant variants present in the country, we identified PVY^NWi as predominant strain group, constituting 56% of total PVY infection. Nevertheless, of significantly low number, PVY^N strain is present in all potato producing regions of Georgia and constitutes 7% of total PVY infection. The Blast analyses of R1 gene fragment of identified recombinant strains in Akhalhalakhi (PVY^NWi and PVY^N) revealed that Georgian strains are 98-99 % identical to the strains circulating in EU. Within the frame work of the project we have developed an dupliplex RT-PCR methodology using newly developed primers. The system provides an opportunity to identify PVY recombinant strains with 100% accuracy and more over to be able to run the reaction in dupliplex, which is a cots efficient solution of the problem. The PCR reaction takes 46 minutes, which allows simaltenous identification of PVY recombinant viruses. The method can be used for seed certification agencies for implementing high snadart of desiasse detection. According to the European Cultivated potato database (www.europotato.org), among the varieties that are spread in Georgia only Spunta and Desiree carry medium resistance to PVY infection. With statistical analyses (ANOVA), there is not a significant difference in an infection rate of PVY between resistant and non-resistant cultivars (df=1; Value=45.8 P= 0,826). This information clearly describes situation where potato varieties sold as resistant to PVY ARE NOT RESISTANT TO provided is not based on true evidence. Because, these varieties Desiree and Spunta formerly were reputed to be well resistant to PVY, but, to new isolates such as PVY^{NTN} or PVY^{NW}.

The dissertation consists of introduction, research materials and methods, experimental results, their discussion, conclusions and list of references (160 sources). It is illustrated with 12 tables and 13 pictures. Total volume of the work is 124 pages.

შესავალი

თემის აქტუალობა

კარტოფილი ქვეყნის ერთ-ერთი უმთავრესი სასურსათო კულტურაა. კარტოფილის მოსავლიანობით საქართველო მნიშვნელოვნად ჩამოუვარდება არა მარტო დასავლეთის განვითარებულ ქვეყნებს, არამედ თავის უშუალო მეზობლებსაც. დაბალი მოსავლიანობა განპირობებულია კარტოფილის ნათესებში დაავადებების (ვირუსების) ფართო გავრცელებით. კარტოფილი ვეგეტატიურად მრავლდება და თუ სათესლე მასალაში დაავადების გამომწვევი პათოგენი შეიჭრა, ის აუცილებლად დაასენიანებს, როგორც ამ მასალიდან მიღებულ მცენარეს, ისე შემდეგ თაობებსაც (აღსანიშნავია რომ ვირუსული დაავადების ვიზუალურად აღმოჩენა თითქმის შეუძლებელია). განსაკუთრებით სახიფათო აღმოჩნდა ახალი რეკომბინანტული ვირუსების წარმოქმნა. ევროპაში კარტოფილის Y ვირუსის რეკომბინანტულმა შტამმა PVYNWi, სათესლე კარტოფილის წარმოება 50%-ით შეამცირა. ახლად წარმოქმნილი რეკომბინანტული შტამები ხშირ შემთხვევაში გვერდს უვლიან მცენარეში რეზისტენტობის ფაქტორს. აღმოჩნდა, რომ ჯიშები რომლებიც ითვლებოდა PVY ვირუსის მიმართ მდგრადებად, არ ამჟღავნებენ მდგრადობას ახალი რეკომბინანტული შტამების მიმართ, კერძოდ, როგორიცაა PVY^NWi, PVY^{NTN}, PVY^N PVY^{NA-NTN}, PVY^O და სხვა.

საქართველოში კარტოფილის სათესლე მასალის სერტიფიცირების სისტემა არ არსებობს. სათესლე მასალად იყენებენ კარტოფილის ტუბერებს, რომლებსაც მრავალი წლის განმავლობაში ამრავლებენ მინდორში თესლბრუნვებისა და აგროტექნიკური ნორმების დაუცველად. აღნიშნულიდან გამომდინარე, საქართველოს მეკარტოფილეობის რაიონებში კარტოფილის ვირუსების გავრცელების არეალის შესწავლა, მათი ახალი რეკომბინანტული შტამების გამოვლენა, სეკვენირება, დაავადების იდენტიფიკაციის მეთოდის შემუშავება წარმოადგენს

წინაპირობას, ქვეყანაში კარტოფილის მოსავლიანობის ასამაღლებლად. საქართველოში გავრცელებულია კარტოფილის ჯიშები, რომლებიც მდგრადია PVY ვირუსის მიმართ, მნიშვნელოვანია რომ შესწავლილ იქნეს რეზისტენტულია თუ არა აღნიშნული ჯიშები ახლად წარმოქმნილი PVY რეკომბინანტული შტამების მიმართ.

კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები

კვლევის ძირითადი ამოცანა იყო საქართველოს მეკარტოფილეობის სამ უმთავრეს რაიონში (ახალქალაქი, ახალციხე, მარნეული) ყველაზე აქტიური ვირუსების (PLRV, PVX და PVY) გავრცელების შესწავლა იმუნოფერმენტულ DAS-ELISA-ს მეთოდის გამოყენებით. მნიშვნელოვანია აგრეთვე მათი გავრცელების სიხშირისა და რისკის დადგენა სათესლე კარტოფილის წარმოების რეგიონებში. ამ მიმართებით მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა საქართველოში PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების გავრცელება. სამწუხაროდ ეს საკითხი საქართველოში არ არის შესწავლილი და მათი გენომი დღემდე უცნობი რჩება. კარტოფილის სასერტიფიკაციო სისტემაში PVY რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაციისათვის, მხოლოდ ცნობილი DAS-ELISA მეთოდი არაა საკმარისი. ამიტომ მიზნად დავისახეთ შეგვემუშავებინა დიაგნოსტიკური დუბლიპლექს RT-PCR კვლევის მეთოდი. რომელიც საშუალებას მოგვცემს სწრაფად და მაღალი სიზუსტით მოვახდინოთ რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია.

ნაშრომის თეორიული და პრაქტიკული ღირებულება

წარმოდგენილ ექსპერიმენტულ მონაცემებს გააჩნია, როგორც სამეცნიერო ასევე პრაქტიკული მნიშვნელობა. ჩვენს მიერ, მოლეკულურ-გენეტიკურ კვლევებზე დაყრდნობით, საქართველოში პირველად, განხორციელდა გავრცელებული კარტოფილის ვირუსების შესწავლა, სეკვენირება და ამასთან ერთად შემუშავდა დუბლიპლექს RT-PCR მეთოდი, რაც საშუალებას იძლევა სწრაფად და ეფექტურად მოხდეს PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების ერთი რეაქციით აღმოჩენა.

საქართველოში კარტოფილის ვირუსების შესწავლა, მათი რეკომბინანტული შტამების გავრცელება და რეზისტენტული ჯიშების არსებობის დადგენა, მნიშვნელოვანი წინაპირობაა, ქვეყანაში დაინერგოს დაავადების იდენტიფიკაციის და მასთან ბრძოლის მაღალი სტანდარტები.

1. ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1. კარტოფილის, როგორც სახეობის მოკლე დახასიათება

კარტოფილი სოფლის მეურნეობის ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული კულტურაა, რომელსაც მრავალმხრივი გამოყენება აქვს. კარტოფილი მიეკუთვნება ძაღლყურძენასებრთა ოჯახს. მისი სამშობლოა პერუ - ტბა ტიტიკაკას აუზი. [1] კარტოფილს მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია მსოფლიოს მოსახლეობის კვების რაციონში. კარტოფილს გააჩნია ორგანული და არაორგანული ნაერთების უნიკალური კრებული, რომლებიც სასიცოცხლოდ აუცილებელია ადამიანის ორგანიზმისათვის. კარტოფილის ევროპაში შემოსვლის შემდეგ, პრაქტიკულად აღმოიფხვრა დაავადება სურავანდი, რომლის მთავარი მიზეზი ადამიანის ორგანიზმში ვიტამინ C-ს უკმარისობაა.

კარტოფილის ბუჩქის სიმაღლე 50-80 სმ აღწევს, შედგება 3-6 ღეროსაგან, ტუბერი ღეროს მიწისქვეშა სახეცვლილებათა. ტუბერის ფორმა შეიძლება იყოს მომრგვალო, წაგრძელებული, ოვალური და სხვა. გარეგანი შეფერილობა და რბილობის ფერი არის — თეთრი, ყვითელი, ვარდისფერი, წითელი და ლურჯი. კარტოფილის ფესვი ფუნჯაა, სუსტად განვითარებული, ფოთოლი კენტფრთისებრ განკვეთილია, აქვს ნაკვთები და ნაკვთულები, შეფერილობა - მომწვანო-მოყვითალო ან მუქი მწვანეა. ყვავილი ხუთწვერიანია, თეთრი, მოწითალო-იისფერი ან მოლურჯო-იისფერი. ნაყოფი სფეროსებრი ან ოვალური კენკრაა, აქვს ძალიან წვრილი თესლები (1000 ცალი 0,5-0,6 გრამს იწონის) [2].

კარტოფილის კანი და გამწვანებული ტუბერები (ბოლქვები) შეიცავენ შხამიან ალკალოიდს სოლანინს, რომელიც ნაწილობრივ იშლება ხარშვის დროს, ამიტომ გამწვანებული ტუბერები, დამუშავების გარეშე საკვებად უვარგისია.

კარტოფილის ტუბერში სახამებლის დაგროვება იწყება მასობრივი ყვავილობის ფაზაში, საადრეო ჯიშებისათვის — დაახლოებით ივლისში, ხოლო საგვიანო ჯიშებისათვის — აგვისტო - სექტემბერში.

კარტოფილის სისტემატიკური დახასიათება ასეთია: სამეფო: Plantae, რიგი: Asterides, ოჯახი: Solanaceae, გვარი: *Solanum*, სახეობა: ***Solanum tuberosum***

კარტოფილი გამოირჩევა კლიმატისადმი შემგუებლობის მაღალი უნარით და იძლევა ნორმალურ მოსავალს მისი ზრდა-განვითარებისათვის ნაკლებად ოპტიმალურ პირობებშიც კი. კარტოფილის წარმოება შეიძლება, როგორც ზღვის დონეზე, ისე ზღვის დონიდან 4.700 მეტრამდე არსებულ ფართობებზე. კულტურას აქვს ძლიერი ფესვთა სისტემა და იძლევა სასურველ მოსავალს ხელსაყრელი კლიმატური პირობების არსებობის შემთხვევაში. მცენარის აღმოცენება იწყება მაშინ, როცა ნიადაგის ტემპერატურა მიაღწევს 7°C-ზე მეტს. ტუბერების ფორმირებისას მიმდინარეობს მცენარის მწვანე მასის ინტენსიური ზრდა, რაც იწვევს კონკურენციას საკვები ელემენტების მოხმარების მხრივ. აქედან გამომდინარე, მწვანე მასის გადაჭარბებული ზრდა ტუბერების ფორმირების პერიოდში ამცირებს მათ წონას. ამ უარყოფითი ფაქტორის გამოძწევი შესაძლოა იყოს ტემპერატურაც. მაგალითად, ნიადაგის მაღალი ტემპერატურა ხშირად ხელს უწყობს მწვანე მასის ზრდას და ტუბერების განვითარების შეფერხებას. ჩვეულებრივი ნაცრისფერი კარტოფილის ტუბერის ოპტიმალური ზრდისათვის ხელსაყრელი ტემპერატურა დაახლოებით 16°C-ია, ხოლო მწვანე მასის ოპტიმალური ზრდისათვის - 25°C. ნიადაგის სიგრძილის შენარჩუნებას უზრუნველყოფს მცენარის საღი მწვანე მასა, რომელიც ქმნის ჩრდილს და ინარჩუნებს ნიადაგის სიგრძილეს 16°C-ის ფარგლებში. კარტოფილი საუკეთესო მოსავალს იძლევა კარგი განათების, ფხვიერ და შესაბამისი დრენაჟის მქონე ნიადაგებზე. კარტოფილისათვის ოპტიმალური მჟავიანობის არე (pH) არის 5.0-დან 6.5-მდე [3].

კარტოფილის 5.000-მდე ჯიში არსებობს. მოხმარების მიზნებიდან გამომდინარე, კარტოფილის ჯიშები იყოფა შემდეგ ძირითად ჯგუფებად: სასუფრე, ტექნიკური, ცხოველების საკვები და უნივერსალური.

მოსავლის აღების პერიოდის ხანგრძლივობის მიხედვით, კარტოფილის ჯიშები ძირითადად დაჯგუფებულია შემდეგი სახით: სუპერსაადრეო (34-36 დღე) საადრეო (40-50 დღე), საშუალოდ საადრეო (50-65დღე), საშუალოდ საგვიანო (80-90 დღე) და საგვიანო (95-150 დღე).

როგორც წესი, კარტოფილისათვის ხელსაყრელია ნიადაგი, რომელიც შესაძლოა წინა წელს დაკავებული იყო სხვა კულტურით. ყამირი ანუ ამ შემთხვევაში წინა წელს დაუმუშავებელი, რომელზეც რამდენიმე წლის განმავლობაში იწარმოებოდა სხვა, არა ძალღერმენასებრთა ოჯახის წარმომადგენელი კულტურა.

1.2. კარტოფილის მნიშვნელობა მსოფლიოსა და საქართველოში

მსოფლიოში კარტოფილი ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული და მოთხოვნადი პროდუქტია. კარტოფილი წარმოების მხრივ, მეოთხე ადგილზეა მსოფლიოში შაქრის ლერწმის, სიმინდის, ბრინჯისა და ხორბლის შემდეგ. კარტოფილის მსოფლიო მოსავალმა 2011 წელს დაახლოებით 374 მილიონი ტონა შეადგინა.

გაეროს სურსათისა და სოფლის მეურნეობის ორგანიზაციის მონაცემებით (FAOSTAT, 2014) მსოფლიოში იწარმოება 365 მილიონი ტონა კარტოფილი. 1990 წლამდე მსოფლიოში კარტოფილის წარმოების ძირითადი წილი მოდიოდა აშშ-სა და ევროპაზე.

საკვებად გამოიყენება კარტოფილის ტუბერი, რომელიც საშუალოდ 76.3% წყალს და 23,7% მშრალ ნივთიერებას შეიცავს. მშრალი ნივთიერების

შემადგენლობაში შედის: სახამებელი - 17.5%, ნახშირწყლები - 0.5%, ცილა - 1-2%, მინერალური მარილები - 1%-მდე, ნედლი უჯრედისი - 0.7%, ცხიმი - 0.1% , ნაცარი - 1.1%. გარდა ამისა, კარტოფილი მდიდარია ვიტამინებით: C, B₁, B₂, B₆, PP და სხვა. კარტოფილში ვიტამინ C-ს შემცველობა საკმაოდ მაღალია. დღეში 300 გრამი კარტოფილის მიღება, 70%-ით აკმაყოფილებს ადამიანის დღეღამურ მოთხოვნილებას, B₁-ის შემთხვევაში - 7.5%-ით, ხოლო ვიტამინ B₂-ის კი 5%-ით [4]. მინერალური ნივთიერებებიდან კარტოფილი შეიცავს ფოსფორს, კალიუმს და მანგანუმს.

კარტოფილი უმნიშვნელოვანესი სასურსათო კულტურაა. მისი წლიური მოხმარების ნორმა საქართველოში ერთ ადამიანზე 120 კგ-ს შეადგენს [3], რაც დაახლოებით ხორბლის მარცვლის მოხმარებას უტოლდება. კარტოფილის სახამებელი გამოიყენება საკონდიტრო, ძეხვეულისა და საფეიქრო წარმოებებში. კარტოფილს იყენებენ, აგრეთვე მეწველი პირუტყვისა და შინაური ფრინველის გამოსაკვებად (1კგ კარტოფილი შეიცავს 0,3 საკვებ ერთეულს). ფართო გამოყენება აქვს კარტოფილის სამრეწველო გადამუშავების შედეგად მიღებულ ნარჩენებს (სახამებლისა და სპირტის წარმოება).

საქართველოში კარტოფილის მოყვანის არეალი მკვეთრად ჩამორჩება, სხვა სასოფლო-სამეურნეო კულტურების კერძოდ, სიმინდის, ხორბლის და ქერის გავრცელების არეალს. საერთო მოსავლით კი ჩამორჩება მხოლოდ სიმინდს. 2016 წელს კარტოფილის საერთო მოსავალმა შეადგინა 250.000 ტ. კარტოფილის მოსავლიანობა საქართველოში დაახლოებით არის 10 ტ/ჰა. რაც ორჯერ უფრო ნაკლებია, ვიდრე ჩვენს მეზობელ ქვეყნებში.

საქართველოში კარტოფილს აწარმოებენ ყველგან, უმთავრესად კი ახალქალაქის, ახალციხის, წალკის, დმანისის, თეთრიწყაროს, ხულოს და შუახევის რეგიონებში. ამ ტერიტორიებზე კარტოფილის ნათესები ზღვის დონიდან 2200-2300 მ-მდე აღწევს. XX-ის 70-იან წლებში ფართოდ გავრცელდა საადრეო კარტოფილის მოყვანა ბოლნისის რაიონში, აქ კარტოფილის საშუალო მოსავლიანობა 12ტ/ჰა-ს

შეადგენს. ახალქალაქის, ახალციხისა და წალკის რაიონებში კარტოფილის მოსავალი შედარებით მეტია ვიდრე ბოლნისში და შეადგენს 17,4-17,8 ტ/ჰა. მარნეულში კარტოფილს ზაფხულშიც თესვენ თავთავიანი პურეულის აღების შემდეგ და ასწრებენ მეორე მოსავლის მიღებას. ამ ზონაში (ზღვის დონიდან 500 მ-მდე) საადრეო მოსავლის მისაღებად კარტოფილი შეიძლება დაითესოს შემოდგომაზეც - კერძოდ კი ნოემბერში. საქართველოში კარტოფილის ფართოდ გავრცელებული ჯიშებია: აგრია, პიკასო, ნეესკი (ცხრილი #12) რომელთაც ახასიათებთ გარკვეული მდგრადობა ვირუსების მიმართ [5].

1.3. საკვლევი რაიონების ბუნებრივი პირობების დახასიათება

კარტოფილის კულტურის ოპტიმალური ზრდა-განვითარებისათვის ხელსაყრელია სამცხე-ჯავახეთის მაღალმთიანი აგროკლიმატური პირობები. კლიმატური ზონების არსებობა განსაზღვრავს ფერმერული და კერძო სექტორების მიწათმოქმედთა რაციონალურ განლაგებას, რის საფუძველზეც შესაძლებელია მარცვლეულის, ბოსტნეულის და სხვა კულტურების ეფექტურად წარმოება [6]. ახალქალაქის, ახალციხისა და მარნეულში, სხვა რეგიონებთან ერთად შერჩეულია აგროკლიმატური ზონები, რაც ეფექტურია კარტოფილის კულტურების წარმოების თვალსაზრისით. აგროკლიმატის მიხედვით რეგიონები დაყოფილია ზონებად: I, II და III.

I ზონა მოიცავს ახალციხის რაიონის ტერიტორიას, იგი მდებარეობს ზღვის დონიდან 800-დან 1000 მეტრ სიმაღლემდე. მრავალწლიური ატმოსფერული ნალექების ჯამი საშუალოდ შეადგენს 500-550 მმ. ბოლო წაყინვები ფიქსირდება 20-23 აპრილის პერიოდში. არაყინვიანი პერიოდის ხანგრძლივობა შეადგენს 179-187 დღეს. აღნიშნულ ზონაში გვხვდება მთის შავმიწა ნიადაგი, ახალციხის ჩრდილოეთით ყავისფერი, დასავლეთით და აღმოსავლეთით კი ყავისფერი ტუტე ნიადაგი [7].

მოცემულ ზონაში კარგად იწარმოება მარცვლეული, ვაზი (საადრეო და საშუალო სიმწიფის ჯიშები), ბოსტნეული და კარტოფილი.

II-ზონა ზღვის დონიდან 400-1000მ სიმაღლეზე მდებარეობს. ამ ზონაში შედის მარნეულის რაიონი. აქ აქტიურ ტემპერატურათა ჯამი 3000°C -ზე მეტია; ატმოსფერული ნალექების მრავალწლიური ჯამი 500-600 მმ-ს შეადგენს. თბილ პერიოდში ნალექების რაოდენობა მცირდება და შეადგენს 350-400 მმ-ს. ბოლო წაყინვები ფიქსირდება 1-5 აპრილის პერიოდებში. არაყინვიანი პერიოდის ხანგრძლივობა შეადგენს 215-224 დღეს. რაც შეეხება ნიადაგის ტიპებს, გვხვდება რუხი ყავისფერი. აღნიშნულ ზონაში ადვილი შესაძლებელია ხეხილოვანი კულტურების, ბოსტნეულის და ა.შ წარმოება.

III-ზონა საკმაოდ ვრცელია და მოიცავს ნინოწმინდის და ახალქალაქის თითქმის მთელ ტერიტორიას. ზღვის დონიდან მდებარეობს 1400-2000 მ-მდე. ატმოსფერული ნალექების საშუალო მრავალწლიური ჯამი შეადგენს 550-650 მმ; ბოლო წაყინვები ფიქსირდება 1-17 მაისის შუალედებში, ხოლო არაყინვიანი პერიოდის ხანგრძლივობა შეადგენს 165-177 დღეს.

ნიადაგის ტიპებიდან მოცემულ ზონაში გვხვდება შავმიწა, ხოლო ახალციხის ჩრდილოეთით ყავისფერი ნიადაგი ჭარბობს. აღნიშნულ ზონაში ტემპერატურის ჯამი შეადგენს 1000°C -ს და მეტს. ასეთ პირობებში ზოგიერთი მრავალწლიანი კულტურის წარმოება შეზღუდულია. შესაძლებელია მხოლოდ კენკროვნების, ბოსტნეულის და მარცვლეულის განვითარება.

1.4. ფიტოპათოგენური ვირუსების ზოგადი დახასიათება

ვირუსები წარმოადგენენ პათოგენებს, რომელთა დანახვა ვერ ხერხდება სინათლის მიკროსკოპით. ვირუსები შედგებიან ნუკლეინის მჟავისაგან, ვირუსები გარშემორტყმულია ცილოვანი კაფსულით. ვიროიდებს კი, უმეტეს შემთხვევაში, არ გააჩნიათ კაფსულა. ისევე როგორც სხვა ორგანიზმებში, ნუკლეინის მჟავები ვირუსებისა და ვიროიდების გენეტიკური ინფორმაციის მატარებელია. აკოდირებენ სამ ან მეტ ცილას. ყველა ვირუსი/ვიროიდი წარმოადგენს ობლიგატურ პარაზიტს, რომლებიც გამრავლებისათვის საჭიროებენ მასპინძელი ორგანიზმის უჯრედულ კომპონენტებს. ვირუსები/ვიროიდები აინფიცირებენ ყველა ტიპის ორგანიზმს: ცხოველებს, მცენარეებს, სოკოებს და ბაქტერიებს.

ვირუსს აქვს მარტივი სტრუქტურა, რომელიც შედგება ორი მთავარი ნაწილისგან. გენომი - შედგება ნუკლეინის მჟავისა და ცილოვანი საფარველისგან. ვიროიდის შემთხვევაში გვაქვს მხოლოდ გენომი. ზოგიერთ ვირუსს აქვს გარეთა მემბრანა, რომელიც შეიცავს ლიპიდებს და ცილებს (ლიპოპროტეინული მემბრანა). ვირუსების ცილოვან გარსს კაპსიდა ეწოდება. ვიროიდების ერთი ტიპი არის ჰელიკალური (უხეშად წაგრძელებული), რომელიც იყოფა ორ მთავარ ჯგუფად: რიგიდული წნული და ხვეული ფილამენტები. ორივე ტიპი შეიცავს ნუკლეინის მჟავას. მეორე ტიპს ეწოდება სფერული, რომელიც მოიცავს ბაცილის ფორმის ვირიონებს და ტყუპ ვირიონებს.

მცენარეთა ვირუსების ძალზედ მცირე ნაწილი შეიცავს დნმ-ს, ხოლო უმრავლესობა მოიცავს ერთძაფიან რნმ - ის სტრუქტურას, რომელიც უჯრედის ინფორმაციული რნმ - ის ანალოგია. აქედან გამომდინარე, ვირუსებს გააჩნიათ გენეტიკური ვარიაციების საკმაოდ ფართო სპექტრი და შესაბამისად, სხვადასხვა ვირუსის რეპროდუქციული და სასიცოცხლო ციკლი განსხვავებულია. ვირიონები უმეტესად რნმ შემცველები არიან და გააჩნიათ მრავალფეროვანი გენეტიკური სპექტრი, რაც უფრო ართულებს მათთან ბრძოლას.

ვირუსები არიან ობლიგატური, ბიოტროფული პარაზიტები. მათი სასიცოცხლო ციკლი იწყება მასპინძლის უჯრედში პენეტრაციით. მცენარეებზე მექანიკური დაზიანების შედეგად, ისინი, იგივე ე.წ. გადამტანი ვექტორები, იჭრებიან ციტოპლაზმაში. ვირუსული ინფექციის მომდევნო ფაზა ციტოპლაზმაში ცილოვანი საფარველის ნაწილობრივი ან სრული მოშორებაა. ამის შემდეგ ხდება მცენარეული ორგანოების მიერ ვირუსული გენომის ექსპრესია, ტრანსკრიპცია და ტრანსლაცია. ვირუსული/ვიროიდული გენომის ტრანსლაცია განაპირობებს ციტოპლაზმაში ცილების წარმოქმნას, რომელიც სასიცოცხლოდ მნიშვნელოვანია ვირუსული ან ვიროიდული დაავადებისათვის. მაგ. . ვირუსი წარმოქმნის სამი ტიპის ცილას: რეპლიკაციის ცილები - რომელიც განაპირობებს ნუკლეინის მჟავების სინთეზს, სტრუქტურული ცილები, რომლებიც განაპირობებენ კაპსიდის ფორმირებას და ე.წ. გადამტანი ცილები, რომელსაც შეაქვს ვირუსი მცენარეთა უჯრედებში.

არსებობს კარტოფილის მრავალი ვირუსი, რომლებიც ერთმანეთისაგან განსხვავდებიან სტრუქტურით და მათ მიერ კარტოფილში გამოწვეული დაავადების სიმპტომებით. კარტოფილის ყველაზე გავრცელებული ვირუსებია: PVM, PVY, PLRV, PVX, PVA და PVS.

1.5. კარტოფილის დაავადების გამომწვევი ვირუსების დახასიათება

ვირუსი, ცოცხალი ორგანიზმის უჯრედში მოხვედრის შემდეგ, იწყებს უჯრედში ანომალური ცილების წარმოქმნას, რასაც მოყვება უჯრედული ფერმენტული სისტემის აქტიურობის დაქვეითება და შესაბამისად ფოტოსინთეზის, სუნთქვის - ტრანსპირაციისა და სხვა ფიზიოლოგიური პროცესების დარღვევა-დაქვეითება, მცენარის ზრდა-განვითარების შეფერხება. ქიმიური სტრუქტურით ვირუსი წარმოადგენს ნუკლეოპროტეიდს. სხვადასხვა ვირუსში ცილოვანი ნაწილი და ნუკლეინის მჟავები სხვადასხვა თანაფარდობითაა წარმოდგენილი, მაგალითად

თამბაქოს მოზაიკის ვირუსში ცილა 95%-ია, ხოლო რნმ-5%, საშემოდგომო ხორბლის ვირუსში 98,7% ცილაა და 1,3% რნმ, ამასთან ეს თანაფარდობა მუდმივია. ვირუსები სიცოცხლის უნარს ავლენენ მხოლოდ ცოცხალ უჯრედში ყოფნისას. მათ არა აქვთ უნარი აქტიურად შეიჭრნენ მცენარეული უჯრედის გარსში, სოკოებისა და ბაქტერიებისაგან განსხვავებით მით უმეტეს კუტიკულაში და მფარავ კანში. მათი შეჭრა უჯრედში ხორციელდება უჯრედის საფარველი კანის მექანიკურად დაზიანებული ადგილებიდან და გადამტანი ორგანიზმებით.

კარტოფილის ინფექციური დაავადებები პრაქტიკულად საყოველთაოდ არის გავრცელებული. ბოლო დროს, შეინიშნება მისი გავრცელების არეალის მატება, განსაკუთრებით კარტოფილის მოყვანის სამივე ზონაში. დაავადების მძიმე ვირუსული და ვიროიდული ფორმების გავრცელება, განსაკუთრებით საშიშია სამეურნეო და სავაჭრო მიზნებით გამოყენებულ კარტოფილის სავარგულებზე. ასეთი ვითარების შედეგი შეიძლება აღმოჩნდეს კარტოფილის ზოგიერთი ჯიშების თანდათანობით გადაშენება. აქედან გამომდინარე, მნიშვნელოვანია ვირუსისაგან თავისუფალი სათესლე მასალის მიღება. დიდ მნიშვნელობას იძენს კარტოფილის ვირუსული დაავადებების ადრეული და ზუსტი დიაგნოსტიკა, რაც სადღეისოდ წარმოადგენს მნიშვნელოვან პრაქტიკულ ამოცანას.

ვირუსების ფართო გავრცელებამ შეიძლება კარტოფილის მოსავალი 80%-ით შეამციროს. რადგან კარტოფილი ვეგეტატიურად მრავლდება, ვირუსი თაობიდან თაობაში ადვილად გადადის. ვირუსის გადამტანი ხშირ შემთხვევაში არის ბუგრი. თუმცა არსებობს გადაცემის კონტაქტური, ვირუსის ჭიებით (ნემატოდა) გადაცემის გზები და სხვა. დაავადების გავრცელებას ხელს უწყობს ნიადაგის დამუშავების პროცესები მაგ: ნიადაგისა და მცენარის შეწამვლა, აგრეთვე მოსავლის აღების პერიოდი, როდესაც მწერი თავისუფლად მოძრაობს ერთი მცენარიდან მეორეზე. უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ ბუგრი ძალიან აქტიურია მაღალი ტემპერატურის პირობებში. ამიტომ დაბლობებში, სადაც ტემპერატურა მაღალია, კარტოფილის

ვირუსით ინფიცირების დონეც შესაბამისად მაღალია. ამდენად კარტოფილის მეთესლეობა უპირატესად მაღალი მთის პირობებშია განვითარებული, სადაც კლიმატი უფრო გრილია [8].

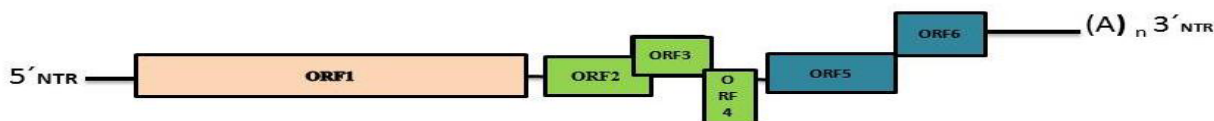
კარტოფილის ვირუსული დაავადებების ძირითადი გადამტანი არის ატმის ბუერი - *Myzus persicae* Sulzer, რომელიც მსოფლიოში ფართოდ არის გავრცელებული. კარტოფილის გარდა, ის ახდენს სხვა სასოფლო-სამეურნეო კულტურების ინფიცირებასაც. კოლონიებში შეიძლება იყოს როგორც ფრთიანი, ისე უფრთო მდედრები. მისი სიგრძე 2.5 სმ-ია. ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა 25°C-ია. სიცოცხლის ხანგრძლივობა 24 დღეა.

1.6. კარტოფილის M (PVM) ვირუსი

კარტოფილის M (PVM) ვირუსი მიეკუთვნება Carlavirus-ის გვარს და Flexviridae -ს ოჯახს [9] ვირუსული ნაწილაკები წარმოადგენენ ძაფისებრი ფორმის 650 ნმ-ის ზომის ნაწილაკებს. ვირიონის დიამეტრია 12 ნმ. ვირუსი მცენარეში შეიძლება იმყოფებოდეს „დეფექტური“ ფორმით ანუ არ ჰქონდეს ცილოვანი გარსი, ამის გამო მისი აღმოჩენა, სეროლოგიური მეთოდებით ყოველთვის ვერ ხერხდება [10]. გენომი წარმოდგენილია ერთი, ერთძაფიანი (+) რნმ-ის მოლეკულით, რომელიც 8534 ნუკლეოტიდს შეიცავს [11]. გენომური რნმ შედგება 6 ღია სახის ათვლის ჩარჩოსგან, რომელიც აკოდირებს 11, 34, 7, 12, 25 და 223 kDa მასის პოლიპეპტიდებს [12].

კარტოფილის M (PVM) ვირუსის სქემატური გამოსახულება

სურათი #1 .



კარტოფილის M (PVM) ვირუსი, მოსავლიანობას აქვეითებს 27-35%-ის ფარგლებში. გავრცელებულია მთელ მსოფლიოში.

ვირუსის გამოვლენის ძირითადი გარეგნული ნიშნებია ფოთლების სიხუჭუჭე და ფოთლის ძარღვებს შორის ქსოვილებზე პატარა გამონაბორცვები. ზედა იარუსის ახალგაზრდა ფოთლებზე გამოხატულია სუსტი მოზაიკა. ახალგაზრდა ფოთლებზე არ შეიმჩნევა ქლოროზული იერი, ფოთლები არ უხეშდება და არ მყიდება, მაგრამ მცენარის ვეგეტაციის მეორე ნახევრიდან დახუჭუჭება ძლიერდება. გამოწვეული სიმპტომები არაერთგვაროვნად ვლინდება სუსტიდან მწვავე ფორმებამდე, რაც დამოკიდებულია ვირუსის შტამზე და კარტოფილის ჯიშზე. ვირუსი იწვევს ყლორტების ზრდის შეჩერებას, ფოთლების მოზაიკას, მრავალფეროვან დაწინწკლას, დანაოჭებას და დახვევას. PVM-ით დაავადებული კარტოფილის უმეტესი სახეობა აგრეთვე შეიცავს PVS-ის ვირუსს.

PVM-ის გადატანა ხდება მექანიკური გზით, შტამების უმეტესი ნაწილი გადაიტანება ბუგრების: ძირითადად *Myzus persicae* [9] და ნაკლები ინტენსივობით *Aphis frangulae*, *A. nasturtii* და *Macrosiphum euphorbiae* [13] საშუალებით. ბუგრების ნესტარში მოხვედრილი ვირუსი დაუყოვნებლივ გადაიტანება, თუმცა მცენარეების მხოლოდ ლიმიტირებული რაოდენობის ინფიცირება შეუძლიათ და გრძელ მანძილებზე გადატანა პრაქტიკულად შეუძლებელია.

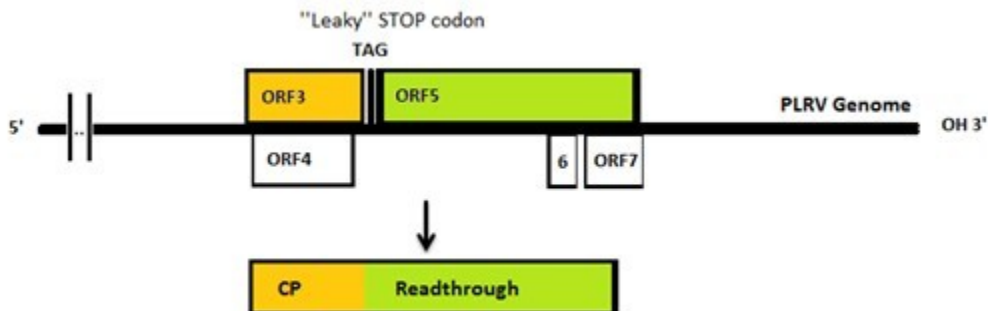
1.7. კარტოფილის ფოთლის სიხუჭუჭის ვირუსი (PLRV)

ფოთლების სიხუჭუჭის ვირუსი (PLRV) მიეკუთვნება *Potterivirus*-ის გვარს და *Luteoviridae*-ს ოჯახს. ვირუსით გამოწვეული მოსავლიანობის დანაკარგი აღწევს 30-80%-ს. ვირუსი ასევე ხშირად გვხვდება სამხრეთ კავკასიაში, ჩრდილოეთ კავკასიაში, ცენტრალურ აზიაში, რუსეთში, თურქეთსა და სხვა ქვეყნებში. ამ ვირუსის მიერ გამოწვეული ზარალი კარტოფილის მოსავლის 38-74%-ს შეიძლება შეადგენდეს [14].

ვირუსის ნუკლეოკაფსიდი იზომეტრული ფორმისაა, სიგრძე 690 ნმ. ნაწილაკის დიამეტრია 24 ნმ [15]. გენომი წარმოდგენილია რნმ-ის ერთძაფიანი მოლეკულით, 5987 ნუკლეოტიდით [16], რომელიც კოვალენტურად დაკავშირებულია VPg ცილის N-ბოლოსთან. ცნობილია 7 და 26.3 kDa მოლეკულური მასის ორი სტრუქტურული პოლიპეპტიდი [17]. გენომური თანმიმდევრობა მოიცავს 8 ღია სახის ათვლის ჩარჩოს, რომელიც ორ კლასტერად არის გაყოფილი. ვირუსის იზოლატების გარჩევა სეროლოგიური მეთოდებით შეუძლებელია [18].

PLRV-ვირუსის გენომის შემადგენლობა

სურათი #2



ვირუსის ზრდა-განვითარება მიმდინარეობს მცენარის მხოლოდ ფლოემის ქსოვილში. ამის გამო ვირუსის კონცენტრაცია მცენარეში მცირეა და მისი აღმოჩენა ფოთლებსა და ტუბერებში გართულებულია [19].

PLRV-ვირუსი გადააქვს ბუგრის მრავალ სახეობას, მაგრამ ყველაზე ეფექტურ გადამტანად ითვლება ატმის ბუგრი (*Myzodes persicae*). ვირუსი სიცოცხლისუნარიანია და მრავლდება მხოლოდ ცოცხალი ბუგრის ორგანიზმში. ვირიონი სფერული ფორმისაა. მისი დიამეტრი 24 ნანომეტრია. ის ობლიგატური პარაზიტია, რომელიც კარტოფილის გარდა აავადებს ძალყურმენასებრთა ოჯახის სხვა კულტურებს: პომიდორს, თამბაქოს და წიწაკას. კარტოფილში ამ ვირუსით დაავადების სიმპტომები დამოკიდებულია კარტოფილის ჯიშზე, ინფექციის შეჭრის დროსა და კლიმატურ ფაქტორებზე. დაინფიცირებული მცენარეების ფოთლები უხეშია, მტვრევადი და დახვეულია ფოთლის შუა დამარღვის მიდამოში. ეს ნიშნები შესამჩნევია როგორც ქვედა, ისე ზედა ფოთლებზეც. დაავადების პირველ წელს, მცენარეზე სუსტად ვლინდება ზედა იარუსის ფოთლების დახვევა, ან/და დაავადება მიმდინარეობს უსიმპტომოდ. მცენარეზე წარმოიქმნება პათოლოგიური გასქელებები, ფოთლები უხეშდება, მყიდება და კარგავს ელასტიურობას. ამის შედეგად სინთეზირებული სახამებელი გროვდება ფოთლებში, ვირუსი ვრცელდება არა მექანიკურად, არამედ ლოკალიზდება ტუბერში.

დასნეზოვნებული მცენარეებიდან შეგროვილი ტუბერები შედარებით მცირე ზომისაა, ხასიათდებიან შინაგანი ნეკროზით და წარმოქმნიან წვრილ ძაფისებრ ღივებს. სიმპტომები საკმაოდ ცვალებადობს ჯიშის, გარემო პირობებისა და ვირუსის შტამის ვირულენტობის მიხედვით.

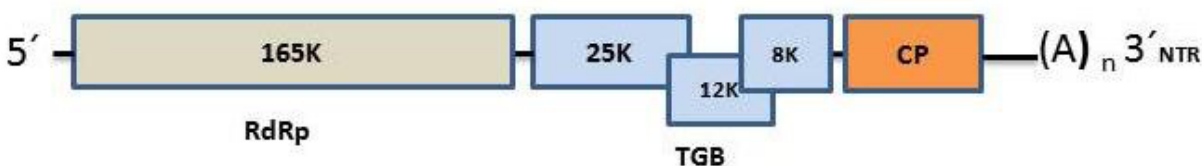
PLRV-ვირუსი ფართოდაა გავრცელებული მეკარტოფილეობის რაიონებში, განსაკუთრებით ისეთ ადგილებში, სადაც ბუგრების მრავალრიცხოვანი პოპულაციები გვხვდება ან რაიმე მიზეზით არ ხდება კარტოფილის სათესლე მასალაში ვირუსების შესწავლა.

1.8. კარტოფილის X (PVX) ვირუსი

კარტოფილის X ვირუსი (PVX) მიეკუთვნება *Potexvirus*-ის გვარსა და *Flexiviridae*-ს ოჯახს. ვირიონები ძაფისებრი ფორმისაა. ნაწილაკების სიგრძე 445-775 ნმ, დიამეტრი 11-15 ნმ [18]. ვირუსის გენომი წარმოდგენილია ერთძაფიანი (+), ხაზოვანი რნმ-ის მოლეკულით. გენომის სიგრძე შეადგენს 6435 ნუკლეოტიდს [20]. გენომური რნმ-ის კიდურა მონაკვეთები ექვემდებარება პოსტტრასკრიპციულ მოდიფიკაციას: რნმ-ის 5'-ბოლო კეპირებულია, 3'-ბოლო შეიცავს პოლი (A) თანმიმდევრობებს [15]. გენომური რნმ შეიცავს 5 სახის ღია ათვლის ჩარჩოს, საიდანაც წარმოიქმნება სტრუქტურული არაგლიკოზილირებული გარსის ცილები (25kDa) და 5 არასტრუქტურული 8, 12, 15, 40 და 44 kDa მოლეკულური მასის პოლიპეპტიდები [18]. ინფექციური პროცესის განვითარების შედეგად M ვირუსი მცენარის ქსოვილებში წარმოქმნის მძივისებრი აგრეგატების ფორმის ფენოვან ფირფიტებს [15]. ვირუსის მოქმედების შედეგად დეგენერაციას განიცდის ქლოროპლასტები, იშლება ციტოპლაზმური მემბრანა, მიმდინარეობს პლაზმოლიზის პროცესი, ფორმირდება ვეზიკულების შემცველი ზონები [18].

კარტოფილის X (PVX) ვირუსის გენომის ორგანიზაციის სქემატური წარმოდგენა

სურათი #3



ვირუსი მიეკუთვნება კარტოფილის „ადვილად გადასატანი“ მოზაიკის გამომწვევ ვირუსებს. მოზაიკის გამოვლენა ფოთლებში ვარირებს სუსტი შეფერილობიდან კარგად შესამჩნევ შეფერილობამდე, ამიტომ ეს სიმპტომი ხშირად

შეუმჩნეველია. ფოთლის ზედაპირზე ჩნდება ბუნდოვანი მოყვითალო ლაქები, რომლებიც ფირფიტის მწვანე ლაქებთან ერთად ქმნის ფოთლის მოზაიკას. ამგვარი ცვლილებები გრილ ამინდში უფრო ხშირია, ვიდრე თბილ ამინდში. დამატებით სიმპტომს წარმოადგენს საერთო ქლოროზი და მცენარის ზრდაში ჩამორჩენა. ზოგიერთი ჯიშის კარტოფილის ფოთლებზე, შესაძლოა ჩამოყალიბდეს შავი ფერის ნეკროზული ლაქები. არსებობს ისეთი ჯიშებიც, რომლებზეც მცენარის ზრდასთან ერთად სიმპტომები ქრება და დაავადება გადადის ლატენტურ ფორმაში.

ვირუსი ძირითადად გავრცელებულია კარტოფილის საწარმოო რეგიონებში [21] PVX-ვირუსის გავრცელებაში ბუგრები მონაწილეობას არ იღებენ. გადადის მექანიკურად, მაგალითად თესვამდე ტუბერების დანით დაჭრის შედეგად. გავრცელებულია დედამიწის ყველა კონტინენტზე. სხვებთან შედარებით სუსტი ვირუსია. მის მიერ გამოწვეული ზარალი არც ისე დიდია. მის წინააღმდეგ დაცვის ძირითადი მეთოდია ჯანსაღი სათესლე მასალის გამოყენება, ტუბერების დასათესად მომზადების დროს საჭიროა დანების სტერილიზაცია და გამძლე ჯიშების გამოყენება.

1.9. კარტოფილის ვირუსი A (PVA)

კარტოფილის A ვირუსი მიეკუთვნება Potyviridae (Potyvirus) გვარს, გავრცელებულია მთელს მსოფლიოში, აინფიცირებს კარტოფილის სხვადასხვა კულტივარებს (ჯიშებს) და შესაძლოა გამოიწვიოს მოსავლის 40% - იანი დანაკარგი. კარტოფილის უმეტეს ჯიშებში PVA, PVX ვირუსთან კომბინაციაში იწვევს მსუბუქად გამოხატულ მოზაიკურ სიმპტომებს, ასევე შესაძლოა გამოიწვიოს სერიოზული და მწვავე დაავადება, რომელიც ცნობილია როგორც „კარტოფილის ნაოჭების“ სახელწოდებით [22, 24] PVA ვირუსი PVY-თან კომბინაციაში ასევე წარმოქმნის მწვავე მოზაიკურ სიმპტომებს. PVA ვირუსი PVY-ის მსგავსად გადაიტანება სხვადასხვა სახეობის ბუგრების საშუალებით, თუმცა უნდა ითქვას, რომ PVA გვხვდება სპორადული სახით. გარკვეულ ჯიშებში 9-11% შემთხვევა უჩვეულო

ხასიათის მატარებელია [23,25]. დაინფიცირებულ მცენარეულ ქსოვილებში ვირუსის კონცენტრაცია დაბალია და ვირიონები არიან ნაკლებად იმუნოგენურები. მათი გამოვლენა ხდება იმუნოსორბენტული შეფასებით (ELISA), რომელიც საჭიროებს ინაქტივაციური ფაზის ხელოვნურ შეწყვეტას და ტუბერების მეორად ინფიცირებას. ამიტომ აუცილებელი PVA ვირუსის დეტექციისათვის სპეციფიკური მეთოდების შემუშავება.

PVA ვირუსის გენომი შედგება მესენჯერ ss რნმ-სგან 3'-poly (A) კუდის ჩათვლით, აკოდირებს ცილა (VPg), რომელიც კოვალენტურად ებმის 5'- ბოლოს. თითოეული დაბოლოება შეიცავს არატრანსლირებად უბნებს. PVA ვირუსის გენომი ასევე აკოდირებს პოლიპროტეინს, რომელიც იხლიჩება ორ მომწიფებულ ცილად სამი ვირუსული პროტეინზას მოქმედებით: P1, HC-Pro, and NIa-Pro. პოტივირუსების ყველა გენომური უბანი და ცილები ჩართულია გენომურ ამპლიფიკაციაში.

მცენარეზე სიმპტომები მრავალფეროვნადაა გამოხატული - სრულიად უსიმპტომო ფოთლის ბრინჯაოსფერ შეფერილობამდე. აღინიშნება სუსტი ნაოჭები და ფოთლების ნაკეცები, ზოგადი გაუფერულება, ზოგჯერ ნეკროზი და დეფორმაცია კიდებზე. ვლინდება სუსტი მოზაიკა, ზოგჯერ ფოთლების დეფორმაციაც კი (ჩახვევა, ნაკეცები, ტალღები). ინფექცია გადადის ინფიცირებულ მცენარესთან კონტაქტის შედეგად, მაგრამ ძირითადად გადააქვთ ტილებს [25].

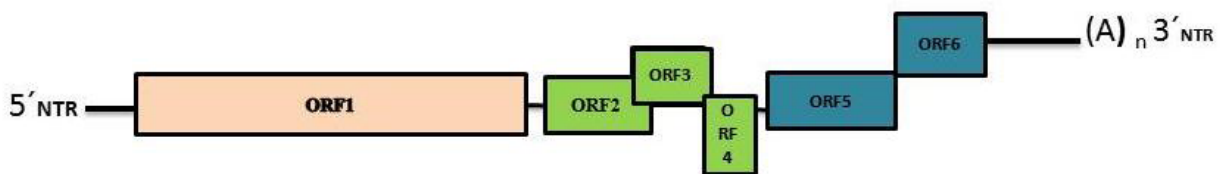
1.10. კარტოფილის ვირუსი S (PVS)

კარტოფილის ვირუსი S (PVS) - მიეკუთვნება Carlavirus-ის გვარს და Flexiviridae-ს ოჯახს. კარტოფილის ნათესების ვირუსით ინფიცირება მოსავლიანობას ამცირებს 20%-ით [24] ვირუსს გააჩნია ორი გამოკვეთილი შტამი, PVS^o (ჩვეულებრივი) და PVS^A (ანდების შტამი). PVS ვირიონები ძაფისებური ნაწილაკებია, სიგრძით 650 ნმ, დიამეტრი 12 ნმ [25]. გენომი წარმოდგენილია ერთძაფიანი

ხაზოვანი რნმ-ის მოლეკულით. გენომის სიგრძეა 1169 ნუკლეოტიდი, რომლის თანმიმდევრობები ჰიდროქსილურ ბოლოზე გაშიფრულია. ცილოვან სუბერთეულების მოლეკულური მასა არის 33-34 kDa [26].

PVS-ის გენომის კავშირი ექვს ORFs-თან

სურათი #4



ზოგიერთი PVS ძირითადად ვრცელდება მექანიკური დაზიანებით, თუმცა მის გავრცელებაში მწვანე ატმის ბუგრის (*Myzus persicae*) ღებულობს მონაწილეობას [27]. დაავადება პრაქტიკულად ასიმპტომატურია და მის შესახებ 1950 წლამდე არაფერი იყო ცნობილი. მხოლოდ ადრეული ინფიცირებისას ზოგიერთ მცენარეზე შეიმჩნევა ძარღვების უმნიშვნელო ჩაღრმავება, გაუხეშებული ფოთლები, სუსტი მოზაიკურობა, ფოთლებზე შავი ან წვრილი ნეკროზული ლაქები. PVS-ის (მცენარის წვენში) თერმული ინაქტივაციის წერტილი 55-60°C-ია, განზავების ბოლო კონცენტრაცია, რომელსაც ინფიცირება შეუძლია არის - 10^{-2} - 10^{-3} ეს უნარი ნარჩუნდება 3-4 დღის განმავლობაში 20°C-ზე. კარტოფილის ზოგიერთ ჯიშში PVS-თან ერთად ხშირად კარტოფილის M ვირუსიც გვხვდება.

1.11. კარტოფილის Y ვირუსი

კარტოფილის ვირუსული დაავადების გამომწვევებიდან ყველაზე ფართოდ არის გავრცელებული და იწვევს დიდ ეკონომიკურ ზარალს (30-90%) [28]. კარტოფილის Y ვირუსი არის Potyvirus გვარის ტიპური წარმომადგენელი, ოჯახი Potyviridae. ვირიონები ძაფისებურია. ვირუსული ნაწილაკების სიგრძეა 500-900 ნმ. დიამეტრი 12-15 ნმ. [18]. ვირუსს შეუძლია მასპინძლის სახით გამოიყენოს მცენარეთა 41 სახეობა, რომელიც ძირითადად 4 ოჯახს მიეკუთვნება [29]. ვირუსის გადამტანია (არაპერსისტენტულად) ფრთიანი მცენარეთა ბუგრები, მათ შორის *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae*, *Aphis nasturtii*, *A. frangulae*, *A. fabae* და სხვა. სადღეისოდ ვირუსის ვექტორად მიჩნეულია მცენარეთა ბუგრების 65 სახეობა [30].

PVY-გენომის სქემატური გრაფიკა

სურათი #5



ვირუსის გენეტიკური მასალა წარმოადგენს ერთჯაჭვიან რნმ-ის (+) მოლეკულას, რომლის ზომაა 9.7 ათასი [31] მატრიცული რნმ-ის ტრანსლაციის პროდუქტია ერთი ცილა (პროტოპოლიპეპტიდი), რომელიც განიცდის პოსტრანსლაციურ მოდიფიკაციას, რასაც თან ახლავს პროტეაზების მოქმედებით შემდეგი ცილების დაშლა: ციტოპლაზმაში ჩამრთველი ცილა, მცირე ცილა VPg, რნმ-დამოკიდებული რნმ-პოლიმერაზა, კაფსიდური ცილა და სხვა [32]. აღსანიშნავია, რომ ყველა ცილას გააჩნია თავის ფუნქცია უჯრედში და მათი გენომური ფრაგმენტების

ცვლილება, ხშირ შემთხვევაში იძლევა სრულიად ახალ რეკომბინანტულ ვირუსულ შტამებს, რომელთაც გააჩნიათ სხვადასხვა ფუნქციები უჯრედში.

იმუნოსორბენტული ELISA ტექნოლოგიითა და ასევე ინდიკატორი მცენარეების გამოყენებით, დადგენილ იყო რომ კარტოფილს გააჩნია PVY ვირუსის სამი ძირითადი შტამი: ჩვეულებრივი (PVY^O), ნეკროზის გამომწვევი (PVY^N) და კარტოფილზე შტრიხული ზოლიანობის წარმოქმნელი (PVY^C). PVY^C კარტოფილში ინდუცირებს ჰიპერმგრძნობელობით მდგრადობის რეაქციას (HR) ჯიში King Edwards, მაშინ როდესაც PVY^O იწვევს (HR) - ს cvs. Desiree და Maris - ში [33], PVY^N არ წარმოქმნის (HR) - ს რეზისტენტულობაზე პასუხისმგებელი ცნობილი სამი გენის არსებობის შემთხვევაში, რომელთაც აქვთ უნარი დაძლიოს და გადააჭარბოს კარტოფილის Y ვირუსის რეზისტენტულობას კარტოფილში [34,35]. PVY^C და PVY^O იწვევს მოზაიკურ და ე.წ. ძარღვულ სიმპტომებს თამბაქოში, თუმცა PVY^N იწვევს ვენოზურ ნეკროზსა და ზრდის შეჩერებას PVY^N ვირუსის წარმოშობის ქვეყანად ითვლება სამხრეთ ამერიკა საიდანაც მან გადაინაცვლა ევროპაში [36,37,38,34].

PVY N-შტამის მიერ გამოწვეული დანაკარგმა გერმანიაში მიაღწია 60% როდესაც ვირუსმა შეაღწია ქვეყანაში, ეპიდემია გავრცელდა სწრაფად, ვინაიდან ვერ ხდებოდა დაინფიცირებული მცენარეების სიმპტომების გარჩევა. PVY N შტამს შეუძლია ლატენტურ ფორმაში არსებობა, რომლის სიმპტომებიც უხილავია, ხოლო მცენარის მოსავლიანობა საგრძნობლად დაბალია. თანამედროვე მოლეკულურ ბიოლოგიური ტექნოლოგიების განვითარებამ, როგორიცაა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია, შესაძლებელი გახდა აღმოჩენა PVY ვირუსის ახალი რეკომბინანტული შტამებისა, რომელთაც ასევე გააჩნიათ განსხვავებული ჰიპერმგრძნობელობითი რეზისტენტულობის (HR) რეაქცია სხვადასხვა ჯიშებში და ასევე თამბაქოზე [33]. სურათი №5 -ზე მოცემულია ახალი რეკომბინანტული შტამების გენომები, რომლებიც დროთა განმავლობაში წარმოქმნილ იქნა რეკომბინანტული მოდიფიკაციით. აღმოჩნდა, რომ სადღეისოდ ფართოდ არის გავრცელებული კარტოფილის PVY^{NA-N} რომელიც წარმოადგენს ს PVY^{NA} და PVY^{NA-NTN}

შტამს შორის რეკომბინაცია. ასევე აღსანიშნავია, PVY^{NTN} რომელიც წარმოადგენს რეკომბინანტულ გენომს PVY^N და PVY^0 შორის. PVY^{NA-NTN} იწვევს კარტოფილის ტუბერების ნეკროზულ რგოლისებურ ლაქებს (PTNRD) ზოგიერთი ფართოდ გავრცელებულ ჯიშებს ევროპაში გააჩნიათ რეზისტენტობა (HR) ამ ახალი რეკომბინანტული შტამის მიმართ [39]. 1990 წელს PTNRD პირველად აღმოაჩინეს უნგრეთში და მას შემდგომ მისი გავრცელება მოხდა ევროპაში და 1990 წელს PTNRD ეპიდემიამ სლოვაკეთში გამოიწვია თითქმის 100%-იანი მოსავლის დანაკარგი. აღმოჩნდა, რომ ჯიში Igor იყო ყველაზე მგრძნობიარე აღნიშნული ვირუსის მიმართ და არ ამჟღავნებდა ვირუსის სიმპტომებს და ვერ ხდებოდა მისი აღმოჩენა ვიზუალური ინსპექციის დროს. აღსანიშნავია, რომ სლოვაკეთში იმ პერიოდში 18 000 ჰა იყო დათესილი აღნიშნული ჯიშით. 1990 წლის შემდგომ სლოვაკეთის სასერტიფიკაციო სისტემაში მოხდა ცვლილება PTNRD რეკომბინანტული შტამის აღმოსაჩენად ამასთან ერთად გამოიცადა და გამრავლდა აღნიშნული ვირუსის მიმართ რეზისტენტული ჯიშები [40]

კარტოფილის ჯიში ანაბელა. სურათის მარცხენა მხარეს გამოსახული PVY^{NTN} -ით გამოწვეული ბოლქვის ნეკროზი.

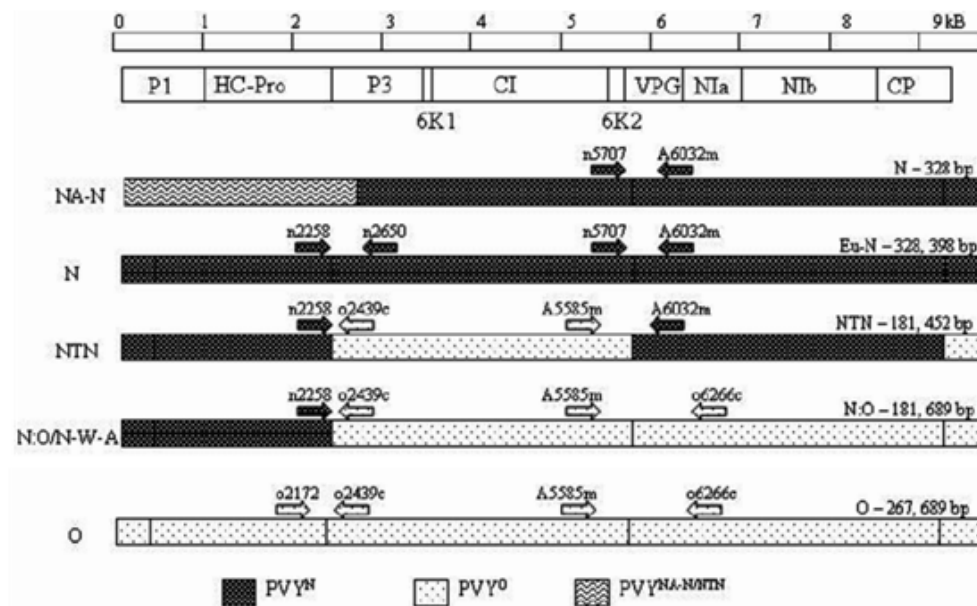
სურათი #6



PVY შტამების რეკომბინანტებს შორის განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს PVY^NWi შტამი, რომელიც წარმოადგენს რეკომბინაციას PVY⁰ და PVY^C შტამებს შორის. ვირუსის მოქმედების შედეგად თამბაქოში წარმოიქმნება ვენოზური ნეკროზი და ზოგჯერ შესაძლოა გამოიწვიოს ტუბერების ნეკროზული სიმპტომებიც კი [41,42,43] ევროპაში დღემდე, ყველაზე მეტად გავრცელებულ და გაბატონებულ შტამს წარმოადგენს PVY^NWi. ეს შესაძლოა გამოწვეული იყოს მისი აგრესიულობის მაღალი დონით, ამავე დროს ისიც ფაქტია, რომ ზოგიერთ ჯიშზე სავსე პირობებში, სიმპტომები რთულად ამოსაცნობია [44, 45]. PVY^NWi პირველად აღმოჩენილ იქნა პოლონეთში ჯიშ ვილგაზე.

PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების გენომური ფრაგმენტების დახასიათება

სურათი #7



ამჟამად სირიაში, კვლევის შედეგად გამოვლენილ იქნა კარტოფილის Y ვირუსის შტამის ახალი ვარიანტი NE/11, რომელიც წარმოადგენს რეკომბინანტულ ტიპს PVY^N და PVY^{NTN} შტამებს შორის [46,47,48]. ვიეტნამში ასევე აღმოჩენილია ამ

შტამის რეკომბინანტული შტამი. შტამების ეტაპობრივი წარმოქმნა, ართულებს PVY ვირუსის კონტროლს, ვინაიდან ახალ რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია თანამედროვე მოლეკულურ ბიოლოგიური ტექნოლოგიების გამოყენების გარეშე თითქმის შეუძლებელია.

1.12. PVY ვირუსის სასიცოცხლო ციკლი

ყველა (+) ssRNA ვირუსს აქვს განსაზღვრული პროცესი, რომ მოხდეს მათი გენომის რეპლიკაცია [49]. PVY აინფიცირებს მცენარეს ვექტორული ორგანიზმების გამოყენებით და მისი მოხვედრა მცენარის ციტოპლაზმაში მნიშვნელოვანია რათა ვირუსმა დაიწყოს კაფსიდური ცილიდან გამოსვლა. რნმ წარმოადგენს მესენჯერულ (m) RNA , რომელიც გამოიყენება ცილების სინთეზის დროს, ამასთან ერთად ის არის წამყვანი რგოლი რათა მოხდეს რნმ ნეგატიური ძაფის სინთეზი. ვირუსული რნმ იწყებს ტრანსლაციას მისი კაფსიდიდან გათავისუფლების მომენტშივე. ის იყენებს მასპინძელი ცილის ტრანსლაციის სისტემას და იწყება, ვირუსისათვის საჭირო ცილების სინთეზი. ზოგიერთი სინთეზირებული ცილა როგორცაა NIb და VPg საჭიროა ვირუსის გენომის რეპლიკაციის (VRC) კომპლექსის ინიცირებისათვის. რნმ დამოკიდებული რნმ პოლიმერაზა (RdRp) აკოპირებს რნმ -ის პოზიტიურ ძაფს რისთვისაც იყენებს VPg როგორც პრაიმერი რათა დასინთეზირდეს რნმ ნეგატიური ძაფი. წარმოქმნილი ორმაგი ჯაჭვი ცალკევდება რნმ ჰელიკაზას მეშვეობით. ნეგატიური რნმ როგორც ნიმუში (+) ssRNA გენომის დასასინთეზირებლად. ახლად წარმოქმნილი რნმ ძაფები გამოიყენება, როგორც ნეგატიური რნმ ძაფების დასასინთეზირებლად ასევე როგორც მესენჯერ რნმ ვირუსისათვის საჭირო ცილების სინთეზირებისათვის, იმისათვის რომ მოხდეს ახლადწარმოქმნილი რნმ ძაფების კაფსიდაციის პროცესი (ცილებით შეფუთვა). შემდგომ უჯრედშორისი მოძრაობის მეშვეობით ვირუსები აღწევენ მცენარის ფლოემაში, სადაც ისინი მცენარის

მაკრომოლეკულებთან ერთად ხდება მათი გადანაწილება მცენარის სხვადასხვა ნაწილებში, როგორცაა ფესვები, ყვავილები, ბოლქვები და სხვა. აღმოჩნდა, რომ ყველა ახლად წარმოქმნილ რეკომბინანტულ შტამებს მცენარის ინფიცირებისათვის გააჩნიათ სხვადასხვა განვითარების ციკლი. შტამებს შორის განსხვავებულია როგორც მცენარის დაინფიცირების მეთოდები, ასევე განსხვავებული გამრავლების და გავრცელების გზები.

1.13. PVY გენომური ორგანიზაცია

PVY გენომი სიგრძეა 9.7 kb, საიდანაც 9.1 kb წარმოადგენს ღია წაკითხვად ჩარჩოს (ORF), რომელიც აკოდირებს დაახლოებით 3000 ამინომჟავას, ვირუსული პოლიპროტეინი შემდგომ იჭრება პროტეაზების მიერ სამ ვირუსულ ცილად (P1, HC-PRO, NIa-PRO). დამატებითი პეპტიდი სინთეზირდება P3NPIPO რომელსაც გააჩნია 77 ამინომჟავა. [50]. პოლიპროტეინი წარმოდგენილია მასში შემავალი სხვადასხვა ცილებით რომელთაც გააჩნიათ თავიანთი დასახელებები. P1, პროტეინაზა; HCPro, პროტეინაზას დამხმარე კომპონენტი; P3, მესამე ცილა, 6K1, 6-kD ცილა 1; CI, ჰელიკაზა; 6K2, 6-kDa ცილა 2; V, VPg – ვირუსულ გენომთან მიბმული ცილა; NIa – პროტეინაზა; CP, გარსის ცილა. P1, სერინის პროტეინაზა, რომელსაც გააჩნია პროტეოლიზური აქტივობა, რომელიც თამაშობს ცენტრალურ როლს PVY ვირუსის სიმპტომის გამომჟღავნებაში. ის ასევე ცენტრალურ როლს თამაშობს რნმ-ის დაკავშირებაში, იმისათვის რომ მოხდეს მასპინძელი ორგანიზმის დამცველობითი მექანიზმის ჩართვა [51]. მიუხედავად იმისა, რომ ცილა არ მონაწილეობს ვირუსის უჯრედშორის მოძრაობაში ის ააქტიურებს ვირუსის გამრავლებას მასპინძელი ორგანიზმშივე. HC-Pro გენი მნიშვნელოვანია ვირუსის ვექტორების მიერ გავრცელებაში [52]. HC-Pro ებმება თავისი PTK წერტილით C ტერმინალურ მესამე სეკვენსით DAG წერტილს, რომელიც მოთავსებულია გარსის ცილის N ტერმინალურ ნაწილში [53] HC-Pro ითვლება, რომ წარმოადგენს დამაკავშირებელ ხიდს potyviruses - სა და ბუგრის პირში არსებულ რეცეპტორებთან [54]. HC-Pro აგრეთვე ებმევა

მასპინძელი ორგანიზმის ცილებს და ხშირად აღმოუჩენიათ დაინფიცირებული მცენარის ქლოროპლასტებში [55]. HC-Pro ითვლება რომ ასრულებს მთავარ როლს ნეკროზული სიმპტომების განვითარებაში თამბაქოზე [56] 35K 52K 50K PIPO 35K 52K 50K 71K 21K 27K 58K 30K PIPO 71K 21K 27K 58K 30K 12 ყველა ეს ცილა წარმოადგენს P3 ცილის ნაწილებს და ასრულებს ცენტრალურ როლს PVY გამრავლებაში და ვირუსული სიმპტომების გამომჟღავნებაში. P3 ცილას გააჩნია მცირე ჰომოლოგიური მსგავსება სხვა potyvirus მიმართ. P3/CI კომპლექსს აქვს უნარი გამოიწვიოს მცენარის ჭკნობა, რამაც შეიძლება გამოიწვიოს დიდი ზიანი. 6K1 ცილის როლი ჯერ კიდევ არ არის დეტალურად შესწავლილი, მაგრამ სავარაუდოა, რომ ის იმეორებს 6K2 ცილის ფუნქციას წარმოადგენენ ინფიცირების თანმდევ ცილებს. 6K1 ცილების დელეციით რთულდება P3 ცილის პროტეოლიზური დაცილება ვირუსის გარსის ცილასთან [57]. CI ცილა მონაწილეობს ვირუსის უჯრედშორისი მოძრაობის პროცესში და მას გააჩნია ჰელიკაზური ატფაზა აქტივობა [58 59]. ცილა 6K2 მონაწილეობს ვირუსული რეპლიკაციის პროცესში და ჩართულია ცილებს შორის ურთიერთქმედებაში, ის არის პროტეაზა, რომელიც ჭრის ვირუსულ პოლიპროტეინს ფუნქციურ ცილებად [60] VPg არის ვირულენტობის ფაქტორი, რომელიც არის მულტიფუნქციური ცილა. ის მონაწილეობს ვირუსის ცილების სხვა ცილებთან დაკავშირებაში, როგორცაა მასპინძელი ორგანიზმი. VPg საჭიროა ვირუსის რეპლიკაციაში ვირუსის გადაადგილებისათვის და უკავშირდება ვირუსულ რნმ პოლიმერაზას. VPg გენის გათიშვის დროს ხდება ვირუსის დასუსტება და ვეღარ ერევა მცენარის ბუნებრივ მდგრადობას. [61]. NIb არის პასუხისმგებელი ცილა გენომის რეპლიკაციაზე და წარმოადგენს რნმ დამოკიდებულ რნმ პოლიმერაზას [62]. გარსის ცილა (CP) ასევე მონაწილეობს ვირუსის ტრანსმისიის პროცესში [63] გარსის ცილა შეიძლება დაიყოს სამ პირობით რეგიონად: N-ტერმინალური, ცენტრალური და C-ტერმინალური. N-ტერმინალი წარმოადგენს ვარიაბელურ უბანს, რომელსაც გააჩნია ვირუს სპეციფიკური ეპიტოპები. სწორედ ამ მიზეზის გამო PVY ვირუსის შტამების დასახასიათებლად სწავლობდნენ გარსის ცილის რეგიონებს იმისათვის რომ

დაედგინათ რომელ N, O, C რეგიონში ხდებოდა რეკომბინაცია. PVY CP ცილა ასევე მონაწილეობს ვირუსის სხვა ფუნქციებშიც როგორცაა რბმ ამპლიფიკაცია, კაფსიდაცია, ვირუსების უჯრედშორისი მიმოცვლა და ვექტორების სისტემურად დაინფიცირება. [64; 65; 66]. გარსის ცილის მთავარი ფუნქცია განიხილება ვირუსული გენომის კაფსიდაცია. მიახლოებით 2000 გარსის ცილის სინთეზი საშუალებას იძლევა, რომ მოხდეს ვირუსის ფილამენტური სტრუქტურის წარმოქმნა რაც დამახასიათებელია პოტივირუსის ჯგუფის ვირუსებისათვის. ბოლო პერიოდი ითვლებოდა რომ PVY ვირუსის გენომი იყო ერთი მთლიანი ღია წაკითხვის ჩარჩო, რომელიც ასინთეზირებდა 10 ცილისგან შედგარ პოლიპროტეინს [67]. აღნიშნული ჩარჩო ასინთეზირებს 75-77 კოდონიან ცილას რომელიც მიზნულია P3 რეგიონის N-ტერმინალურ უბანთან და ითვლება რომ ის მონაწილეობს ვირუსის უჯრედშორისი გადაადგილების პროცესში.

1.14. რეზისტენტულობის გენეტიკა

მცენარე ცხოვრობს კომპლექსურ გარემოში, სადაც ისინი ურთიერთქმედებენ პათოგენური მიკროორგანიზმების ფართო სპექტრთან, რომელთაც აქვთ ერთმანეთისგან განსხვავებული ცხოვრების წესი და ინფექციის გამომწვევი სტრატეგია. ზოგადად, მცენარეები თავს იცავენ პათოგენებისგან აქტიური და პასიური თავდაცვის სისტემების კომბინაციით. პასიური თავდაცვის სისტემაში, სტრუქტურული მახასიათებლები მოქმედებს როგორც ფიზიკური ბარიერი და აინჰიბირებენ პათოგენებს, რომ არ მოხდეს მათი შეღწევა და გავრცელება მცენარეულ უჯრედებში. თავდაცვის აქტიურ სისტემაში, მცენარეულ უჯრედსა და ქსოვილში მიმდინარეობს ბიოქიმიური რეაქციები, რომლის დროსაც წარმოიქმნება ნივთიერებები, რომელთაც აქვთ ან ტოქსიკური ზემოქმედება პათოგენების მიმართ ან ქმნის ისეთ გარემო პირობებს, სადაც ხდება პათოგენების ზრდის ინჰიბირება [68].

მცენარესა და პათოგენებს შორის ევოლუციურმა ბრძოლამ წარმოქმნა თავდაცვის მაღალი ხარისხის სისტემები და მექანიზმები, მაგ. ცხოველთა

თანდაყოლილი იმუნური სისტემა (აქტიური დაცვა), პათოგენების ამოცნობა და პასუხი სპეციფიკური თავდაცვის სისტემების გააქტიურებით, რომელიც პირდაპირ მიმართულია ინტრევენტა (პათოგენების) მიმართ [69]. მცენარეები პასუხობენ ინფექციებს თანდაყოლილი იმუნური სისტემის ორი განშტოების საშუალებით. პირველი განშტოება ამოიცნობს და პასუხობს მრავალი ტიპის მიკრობებს, მათ შორის არაპათოგენურებს. აღნიშნულ განშტოებაში რეზისტენტულობა გამოწვეულია პათოგენთან ასოცირებული მოლეკულური მოდელების (PAMPs) ამოცნობით, მცენარის ზედაპირზე არსებული ამომცნობი რეცეპტორები მოდელით (PRR), რომელიც ასტიმულირებს PAMP იმუნიტეტს, რაც ახდენს პათოგენების ინვაზიის პრევენციას. თავდაცვის სისტემა, რომელიც აქტიურდება PAMPs მიერ ერთობლივად იწვევს PAMP იმუნიტეტს (PTI) ან ბაზალურ რეზისტენტულობას [70].

უმრავლეს შემთხვევაში, PTI ახდენს პათოგენების ზრდის პრევენციას ინფექციის ადრეულ სტადიაზე პათოგენების მიმართ პასუხისმგებელი გენების ინდუქციის საშუალებით, რეაქტიული ჟანგბადის თავისუფალი რადიკალების წარმოქმნა, პროტეინ-კინაზების წამოქმნა, რომლებიც გადასცემენ სიგნალს და ახდენენ კალოზის დეპონირებას იმისათვის რომ ინფექციის ადგილზე მოხდეს უჯრედის კედლის გაძლიერება და გამყარება [71]. იმ შემთხვევაში თუ პათოგენი აცდა თავდაცვის სისტემის აღნიშნულ ხაზს, მან უნდა გადალახოს თავდაცვის სისტემის მეორე ხაზი. მეორე განშტოება მოქმედებს პირდაპირ უჯრედის შიგნით დაავადების მიმართ რეზისტენტული ცილების გამოყენებით (R), რომლებიც გამოიცნობენ პათოგენების მომწოდებელ ეფექტორებს ან მათ ეფექტს მასპინძლის ცილებზე. R პროტეინი შუამავალი თავდაცვის სისტემა განსაზღვრავს ეფექტორულ იმუნიტეტს (ETI) ან გენი-გენისთვის რეზისტენტულობას, რომელშიც მცენარეთა რეზისტენტულობის ცილოვანი პროდუქტები (R) გენები სპეციფიკურად ამოიცნობენ ავირულენტურ მონათესავე პათოგენს (Avr) გენების პროდუქტებს და ძლიერ რეზისტენტულ პასუხს. ეფექტორების პირდაპირი და არაპირდაპირი გამოცნობა R პროტეინების მიერ ასტიმულირებს ETI - ს, რომელიც ამპლიფიცირდება PTI

პასუხით, რომელიც აისახება დაავადების რეზისტენტულობაში [72]. ETI ინდუცირებს ჰიპერმგრძნობელობით პასუხს (HR) ლოკალიზებულ მკვდარ უჯრედთან და თავდაცვის გენების ექსპრესიას, რომლებიც ახორციელებს პათოგენების ზრდასა და გავრცელების სუპრესიას.

1.15. R გენების სტრუქტურა და ფუნქცია

Sacco-სა და Moffett-ის (2009) მიხედვით, დაახლოებით 70 R გენი უკვე კლონირებულია [73]. ფოკუსირება კეთდებოდა ძირითადად პათოგენური სოკოებისა და ბაქტერიების მონოგენურ დომინანტურ რეზისტენტულობაზე. მაგრამ არსებობს ნათელი მტკიცებულება, რომ საერთო მექანიზმები ჩართულია ვირუსის რეზისტენტულობაში [74]. R გენების უმრავლესობა მიეკუთვნება ნუკლეოტიდური კავშირების ლეიციინით მდიდარ განმეორებების ოჯახს (NB-LRR). NB-LRR - ს შეიცავს LRR დომენის C ტერმინალურ ნაწილს და ცენტრალურ NB დომენს [75]. NB არის ფართო დომენის ნაწილი, რომელსაც ეწოდება NB-ARC (Apaf-1, R-პროტეინი, CED-4), ის წარმოადგენს R პროტეინების და ადამიანის აპოპტოზური პროტეაზა აქტივაციური ფაქტორი 1-ის ერთობლიობას (APAF-1) და *Caenorhabditis elegans* ჰომოლოგ - CED-4-ს [76]. NB - ის ფუნქცია არის იმოქმედოს როგორც ნუკლეოტიდ დამოკიდებული მოლეკულური switch, რომელიც არეგულირებს აღნიშნული პროტეინების სტრუქტურას და სასიგნალო მოქმედებებს. LRR დომენი პოზიციონირებული C - ტერმინალურ ბოლოზე NB-ARC, წარმოქმნის რკალის მსგავს კონფორმაციას, წარმოიქმნება ცილა-ცილა ურთიერთკავშირი, რომელიც იძლევა ამოცნობის სპეციფიურობას (სურ. 1). N- ტერმინალური დომენის იდენტურობის საფუძველზე NB-LRR - ის ორი მთავარი კლასიდან გამოირჩევა R პროტეინი. ზოგიერთი შეიცავს გრძელ ინტერლეიკინ-1 რეცეპტორს (TIR) დომენს და აღნიშნული R პროტეინებს ეწოდებათ TIR-NB-LRR ან TNL [77] არა TIR-NB-LRR - ის შემცველი

პროტეინები შეიცავენ ორსპირალიან რგოლებს (CC), აღნიშნული ოჯახი განიხილება როგორც CC-NB-LRRs [78].

LRR-სა და პათოგენების ეფექტორებს შორის უშუალო ურთიერთკავშირი იშვიათად არის აღწერილი. Guard-theory აღწერს პათოგენის ამოცნობის ალტერნატიულ მექანიზმს, რის მიხედვითაც NB-LRR პროტეინები ცნობილია როგორც „დამცავი“ პროტეინები და წარმოადგენენ Avr პროტეინის სამიზნეს. როდესაც პათოგენების შეცნობის მექანიზმი გამოავლენს „დამცავ“ პროტეინებთან ინტერფერენციას, აღნიშნული პროცესი წარმოქმნის რეზისტენტულობას [79]. მასპინძელი-პათოგენის ურთიერთქმედება უფრო მეტად ჰგავს Avr პროტეინსა და მასპინძელ ორგანიზმში არსებულ პათოგენის ამომცნობ მექანიზმს შორის ურთიერთქმედებას. აღნიშნულ კომპლექსს აქვს შესაძლებლობა ამოიცნოს პათოგენი და გაგზავნოს სიგნალი თავდაცვის პასუხის გამოსაწვევად. სასიგნალო პროცესის დონე და აქტივაცია მკაცრად უნდა დარეგულირდეს და პათოგენის ამოცნობის კომპლექსი უნდა დაბალანსდეს პათოგენის მიმართ საპასუხო რეაქციის აღმოცენების მიზნით.

NBC-LRR კოდირდება კარტოფილის Rx გენით და ყველაზე კარგად არის შესწავლილი R ცილები. Rx შუალედური რეზისტენტულობა PVX – ის მიმართ და პათოგენის ამოცნობის სპეციფიკურობა დამოკიდებულია სპეციფიკური ამინომჟავური ნაშთების არსებობაზე ვირუსული საფარველის ცილებს შორის და ასევე Rx LRR დომენის თვისებებზე [80]. Rx პროტეინის NB დომენი აღმოჩენილია იმისათვის რომ გამოიწვიოს თავდაცვითი რეაქცია (პასუხი) (Rairdan et al., 2008). თუმცა სხვა CC-NB-LRR პროტეინები რჩება განსასაზღვრავი. PVX – ის შტამების რეზისტენტულობის რღვევა გამოწვეულია გარსის ცილების მუტაციით, რომელიც ასევე პასუხისმგებელია პათოგენის Rx1 შუალედურ ამოცნობაზე. თავდაცვის სასიგნალო პროცესების ინიცირება ხდება Rx - სა და PVX – ის გარსის ცილებს შორის ურთიერთქმედებით, აღმოჩნდა რომ PVX – ის გარსის ცილები ჩართულია Rx - ის

პოლიპეპტიდურ ჯაჭვში კონფორმაციული ცვლილების პროცესში და იწვევს მის ტრანსფორმაციას ინჰიბირებული მდგომარეობიდან აქტიურ მდგომარეობამდე. არ არის ნათელი ის რომ Rx პროტეინების რეორგანიზაცია ითხოვს პირდაპირ (უშუალო) ურთიერთკავშირს ელისიტორთან [81].

კარტოფილისა და Solanacea-ის ოჯახთან დაკავშირებული სხვა წევრებიდან 50-ზე მეტი NB-LRR გენი იქნა კლონირებული [82]. სადღეისოდ, ამინომჟავების Motif (ნაშთები) საფუძველზე, რომელიც ეფუძნება კარტოფილის ანოტირებული გენომის კვლევას 438 NB-LRR ტიპის გენები იქნა იდენტიფიცირებული დაახლოებით 39 000 კარტოფილის გენების მოდელებს შორის. ნაწინასწარმეტყველები გენების 77 გენი შეიცავს N - ტერმინალურ გრძელ/ინტერლეიკინ 1 რეცეპტორს (TIR) - მსგავსი დომენი და 107 შეიცავს N - ტერმინალურ ორსპირალიან რგოლურ (CC) დომენს [83].

თითქმის ყველა R პროტეინი კოდირდება რეზისტენტული გენები აქტივირებით მცენარეული ვირუსების წინააღმდეგ. როდესაც აქტიურდება გენები იწვება ცილის სინთეზი, რომელიც შეიცავს ლეიცილით მდიდარ განმეორებების კლასს (NBS-LRR) და განლაგებულია უჯრედის შიგნით. თუმცა არ არსებობს სტრუქტურული ან R პროტეინების სხვა ანტივირუსული თვისებები, რომლებიც გამოყოფენ მათ NBS-LRR პროტეინებისგან, რომლებიც ანიჭებს რეზისტენტულობას ბაქტერიებს, სოკოებს, ოომიცეტებს ან უხერხემლოებს [84]. სასიგნალო პროცესები იწვევენ თავდაცვის სისტემების აქტივაციას პათოგენების ფართო სპექტრის წინააღმდეგ არა მხოლოდ ვირუსები [85,86,87,88].

12 დომინანტური R გენი, რომელიც ვირუსებს ანიჭებს რეზისტენტულობას ექსპრესირდება (ვლინდება) ან როგორც ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქცია (HR) ან როგორც ექსტრემალური რეზისტენტულობა (ER), ჩატარდა აღნიშნული გენების კლონირება და სეკვენირება [89,90]. კარტოფილში ცამეტი ფუნქციური NBS-LRR გენი იქნა იდენტიფიცირებული, რომელშიც Rx1 და Rx2 ანიჭებს რეზისტენტულობას PVX - ის მიმართ [91]. დომინანტური გენების კლონირებით როგორიცაა Agrobacterium

transient - ის ექსპრესიის სისტემა, საშუალებას იძლევა გამოყვანილ იქნას, PVX ვირუსის მიმართ მდგრადი ჯიშები [92,93]. შესაბამისად, ორივე გენი მიეკუთვნება CC- NBS-LRR კლასს. კარტოფილის გენი Y-1, N-გენის ჰომოლოგი, რომელიც ანიჭებს ჰიპერმგრძნობელობას (HR) PVY-ს ასევე იქნა კლონირებული და დახასიათებული [94].

შემდგომ ვირუსი აღმოჩენილ იქნა LRR - ით, R პროტეინის კომპლექსის ფუნქცია უნდა ჩაირთოს პათოგენის ამოცნობის მომენტიდან სიგნალის ტრანსდუქციამდე. ინტრამოლეკულური ურთიერთკავშირი, NBS დომენის აქტივაცია და სასიგნალო კომპონენტების ცვლილება, რომელიც შესაძლოა უკავშირდებოდეს გარსის ცილებს (CC) ან (TIR) დომენს და LRR დომენი ჩართულია სიგნალის გადაცემის ადრეულ სტადიაზე (სურ. 1) [95,96].

1.16. ვირუსის რეზისტენტულობის მექანიზმი

სასიცოცხლო ციკლის დასრულების მიზნით ვირუსები ექვემდებარებიან მრავალსაფეხურიან პროცესს, რომელიც მოიცავს მცენარეში შეღწევის პროცესს, ნუკლეინის მჟავების გამოთავისუფლებას, ვირუსული პროტეინების ტრანსლაცია, ვირუსის ნუკლეინის მჟავების რეპლიკაცია, ვირიონების შეჯგუფება, უჯრედიდან უჯრედზე გადატანა, სისტემური გადაადგილება და მცენარიდან მცენარეზე გადატანა [97]. მცენარის ვირუსები ტიპიურად ინიცირებენ ინფექციას მცენარეულ უჯრედის კედლის საშუალებით ცოცხალ უჯრედში პენეტრაციის გზით, მცენარეზე არსებული მექანიკური დაზიანებების გზით, ან ვექტორების მიერ როგორც არის მწერები და ნემატოდები. როდესაც ვირუსული ნაწილაკები ხვდება დაავადების მიმართ მგრძნობიარე მცენარეულ უჯრედში, ვირუსული გენომი თავისუფლდება კაფსიდისგან, ტიპიურად მცენარეულ ციტოპლაზმაში. როდესაც გენომი ხდება ხელმისაწვდომი, შესაძლოა მოხდეს ტრანსლაცია მატრიცული რნმ-დან რომ

წარმოქმნას ადრეული ვირუსული პროდუქტები როგორც არის ვირუსული რეპლიკაზა და სხვა ვირუს სპეციფიკური პროტეინები. მომავალში ვირუსებზე აისახება სხვადასხვა შეზღუდვები, რომელიც გამოწვეულია მასპინძელი ორგანიზმის მხრიდან და აგრეთვე ითხოვს მრავალი მასპინძელი ორგანიზმის ცილების ჩართულობას, ვირუსული ინფექციის ციკლის ფუნქციას ტიპურად უცვლის მიმართულებას [98]. იმისათვის რომ ვირუსების მიერ ინფიცირების პროცესი წარიმართოს აუცილებელია ერთობლივი ურთიერთქმედებების მთელი რიგი სერიები მასპინძელ ორგანიზმსა და ვირუსული გენების პროდუქტების შეზღუდულ რაოდენობას შორის. ვირუსის რეპლიკაციისათვის, ან ვირუსის გადატანისათვის, ან მუტაციისათვის მასპინძელი ორგანიზმის ფაქტორების არარსებობა, ანუ შეუთავსებლობა მიჩნეულია პოსტულატად და გამოთვლილია მემკვიდრეობით მიღებული რეცესიული დაავადების რეზისტენტულობა (პასიური რეზისტენტულობა) [99]. საწინააღმდეგოდ კი დომინანტურმა რეზისტენტულობამ აჩვენა შედეგი ვირუსის აქტიური ამოცნობის პროცესიდან, რომელიც ხდება ვირუსულ ფაქტორსა და მასპინძლის ორგანიზმს შორის, რაც საბოლოოდ გამოიხატება თავდაცვითი პასუხის ინდუქციით. არსებითად, პასიური და აქტიური რეზისტენტულობა შესაძლოა ფუნქციონირებდეს ვირუსის სასიცოცხლო ციკლის ნებისმიერ ეტაპზე, თუმცა ყველაზე კარგად ცნობილი ვირუსული რეზისტენტულობის მექანიზმი მიმართულია, რეპლიკაციასა ან გადატანაზე [100]. აქტიური რეზისტენტულობის დროს, მცენარის R გენები ურთიერთქმედებს პათოგენ-მაკოდირებელ ავირულენტობის გენტან (Avr) (გენი-გენისთვის) ჰიპოთეზა. მცენარის სპეციფიკურმა R პროტეინებმა შესაძლოა ამოიცნონ პათოგენის Avr პროტეინები და ინიცირებს თავდაცვის საპასუხო სიგნალს. [101].

1.17. შუალედური რეზისტენტულობის სასიგნალო სისტემა

მცენარის პასუხი ვირუსზე ასევე შესაძლოა დაიყოს ორ მთავარ კატეგორიად, როგორც არის უჯრედული სტრესი და ევოლუციური დეფექტები. *Arabidopsis* - სა და *N.Benthamiana* გენების ექსპრესიასთან შედარებით, შეიძლება დავასკვნათ, რომ ვირუსული ინფექცია იწვევს თავისებურ ცვლილებებს გენების ექსპრესიისას, რაც ძალიან ჰგავს სტრესსა და თავდაცვით პასუხებს. [102]. სტრესული პასუხები ხასიათდება Heat shock proteins-ის (HSP) ინდუქციით, ხოლო თავდაცვითი პასუხი გამოწვეულია პათოგენების ინდუქციით, რომელიც დაკავშირებულია (PR) გენებთან, რომლებიც ასოცირებულია მცენარეულ თავდაცვასთან. HSP-ისა და PR გენების ინდუქცია გამოხატავს უჯრედული სტრესის პასუხს, იმიტომ რომ მათი არასპეციფიკური ბუნება და სპეციფიკური elicitors - ების ნაკლებობა სტიმულირებს (იწვევს) მათ. უმეტესი ვირუსული მექანიზმის დამახასიათებელი პასუხები, აღმოცენდება ტიპური გენი-გენისთვის ან რეზისტენტული გენ-ავირულენტობა გენის ურთიერთქმედების არარსებობის შემთხვევაში [103]. PR გენების ექსპრესია, რომლის დროსაც შუალედურ როლს ასრულებს სალიცილის მჟავა (SA). ზოგადად SA-ის ზრდა ზრდა ითხოვს PR-სა და მატრიცული რნმ-ის ტრანსკრიპტებს [104,105,106].

თავდაცვის მექანიზმთან ასოცირებული გენები მოიცავს მრავალრიცხოვან პათოგენებთან დაკავშირებულ PR გენებს, როგორც არის PR-1, PR-2, β -1,3 გლუკანაზა, PR-3 (ქიტინაზა), PR-4, PR-5 (ტაუმატინის მსგავსი პროტეინები, გენთან ასოცირებული რედოქს სტატუსი, როგორც არის სუპეროქსიდდისმუტაზა და GST (გლუტათიონ S ტრანსფერაზები, რეზისტენტული გენების ჰომოლოგები [107,108].

მიტოგენ აქტივაციური პროტეინკინაზას (MAPK) კასკადები ასრულებენ განსხვავებულ როლს მცენარეში მიმდინარე პროცესებში, რომელიც მოიცავს

ციტოკინებს, ფიტოჰორმონების სასიგნალო სისტემას, პასუხს დაზიანებაზე, ოსმოსური სტრესს და პათოგენ-რეზისტენტულობას [109]. ტრანსკრიპციის ფაქტორების სხვადასხვა ოჯახები: TGA, MYB და WRKY მოქმედებენ დაავადების რეზისტენტულობისას [110]. ზოგიერთი მნიშვნელოვანი სიგნალის ტრანსდუქცია ჩართული ვირუსების მიმართ რეზისტენტულობაში მოიცავს:

სალიცილის მჟავას SA: რომელიც თამაშობს მთავარ როლს სიგნალის ტრანსდუქციის პროცესში, რომელიც აისახება სისტემურ შეძენილ რეზისტენტულობაში და ითხოვს ვირუსებისა და სხვა პათოგენების ლოკალიზაციას ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქციის პროცესისას (HR). SA აუცილებელია პროტეინების ჯგუფის ექსპრესიისათვის, რომელიც კოლექტიურად მიმართულია პათოგენებთან დაკავშირებულ პროტეინებთან. SA შესაძლოა გამოიწვიოს ვირუსის რეპლიკაციის ინჰიბირება, უჯრედიდან უჯრედზე სისტემური გადატანა, მაგრამ ზუსტი ეფექტი SA-ით გამოწვეული რეზისტენტულობა ვირუსის სასიცოცხლო ციკლზე შეიძლება განსხვავდებოდეს აისახოს და ვირუსებში [111,112,113]. SA - ის ბიოსინთეზი ინდუცირებულია უფრო ძლიერად ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქციისას (HR). SA აუცილებელია იმისათვის, რომ დაარეგულიროს HR-ის სივრცე და ქრონომეტრაჟი. HR-ის განმავლობაში, გრადიენტ SA ფორმები, SA - თან აკუმულირებული HR პათოლოგიური ცვლილების საშუალო დონე, ჯანმრთელი ქსოვილის დაბალი დონე [114].

სასიგნალო სისტემის შუამავალი რგოლია ჟასმონის მჟავა და ეთილენი: მიუხედავად SA დამოკიდებულებისა სასიგნალო გზაზე, ეთილენზე და ჟასმონის მჟავა, მოთხოვნილება R გენების შუამავალი რეზისტენტულობა ვირუსების მიმართ არის უფრო კომპლექსური და არამდგრადი. ET-, JA- და SA-დამოკიდებული სასიგნალო გზას შესაძლოა ერთმანეთზე ჰქონდეს სინერგისტული ან ანტაგონისტური ეფექტები. ET და JA წარმოადგენენ მეორად სასიგნალო მოლეკულებს, რომელიც ფუნქციონირებს მიკრობულ თავდაცვის სისტემაში, დაზიანებების ადგილზე და მწერების შემოტევის დროს.

მნიშვნელოვანია ჟანგბადის აქტიური ფორმები, კალციუმისა და აზოტის ოქსიდების მიერ სიგნალის გადაცემა. ჟანგბადის აქტიური ფორმები (ROS) აღიარებულია როგორც სასიგნალო მოლეკულები თავდაცვითი პასუხის დროს, განსაკუთრებით ოქსიდაციური პროცესის დროს, რომელიც მიმდინარეობს ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქციის ადრეულ სტადიაზე გენი-გენისთვის საპასუხო რეაქციის განმავლობაში [107]. (ROS) აქვს რამდენიმე როლი HR - ის დროს, მაგრამ სასიგნალო ფუნქციის თვალსაზრისით ყველაზე მნიშვნელოვანია: პირველი ოქსიდაციური ჟანგვა ააქტიურებს Ca^{2+} ნაკადს პლაზმური მემბრანის გასწვრივ ციკლური ნუკლეოტიდური-ჭიმურის არხების საშუალებით, დამატებით ხდება Ca^{2+} მობილიზაცია უჯრედშიდა საცავებიდან [108,109]. მეორე - Ca^{2+} იონების ნაკადის ცვლილების ეფექტი ციტოპლაზმაში განაპირობებს კალციუმ-დამოკიდებული პროტეინ კინაზების მოქმედებას როგორც უმაღლესი კომპლექსის (MAPK) კასკადებს. ROS, რომელიც გენერირდება მიტოქონდრიაში შესაძლოა ასევე ასრულებდეს დიდ როლს თავდაცვითი პასუხის გამოწვევაში. განსაკუთრებით ვირუსების მიმართ რეზისტენტული პასუხის, რომელიც ინდუცირებულია - ით. შემოთავაზებულია, რომ ალტერნატიული ოქსიდაზა (AOX) არის ერთერთი ფაქტორი რომელმაც შესაძლოა გავლენას ახდენდეს ამ ფორმაზე, ინდუცირებული SA - ით, თავდაცვითი სასიგნალო სისტემის [110].

აზოტის მონოოქსიდი (NO) მნიშვნელოვანი სიგნალია მცენარის თავდაცვითი მექანიზმის დროს. მაგალითად, NO-სა და H_2O_2 -ის ფარდობითი დონე არეგულირებს უჯრედების პროგრამირებულ სიკვდილს ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქციის დროს (HR) ([111] და არეგულირებს თავდაცვითი მექანიზმის გენების ექსპრესიას, როგორც ინფექციის წერტილში ასევე დისტალურ ქსოვილში, კერძოდ SA - ის ბიოსინთეზის პროცესში ჩართვის გზით [112]. NO ასევე სტიმულირებს ბირთვული გენების ექსპრესიის ცვლილებას და თავდაცვით სიგნალს არაპირდაპირი გზით ციტოქრომული ოქსიდაზას ინჰიბირების საშუალებით [113].

1.18. გაჩუმებული გენები

მცენარეებს ასევე აქვთ განვითარებული მექანიზმები, რომლებიც აქტიურად არის მიმართული ვირუსების წინააღმდეგ. ვირუსული რნმ მიმართულია იმისათვის, რომ მოხდეს მცენარის რნმ გაჩუმებული „silencing“ მექანიზმის დეგრადაცია. აღნიშნული მოიცავს ორმაფიანი ვირუსული რნმ-ის (dsRNA) გარდაქმნას Dicer მსგავსი ენზიმების მიერ პატარა ინტერფერირებულ რნმ-ად (siRNA), რომლებიც შემდგომში კომბინირდება პროტეინების კომპლექსში და მიიმართება ვირუსული რნმ-ის დეგრადაციის მიზნით ენდონუკლეოლიტიკური პროცესის საშუალებით. მიუხედავად იმისა რომ, რნმ „silencing“ ზოგადად არ არის საკმარისი, რომ სწრაფად შეზღუდოს ვირუსული პათოგენების მიერ გამოწვეული ინფექცია, იმიტომ რომ ვირუსების უმრავლესობა კოდირებულია ვირუსული რნმ „silencing“ ვირუსული სუპრესორით (VSRs) [114]. ვირუსების მიმართ სწრაფი რეზისტენტული პასუხი შესაძლებლობას იძლევა წარმოიქმნას გენი-გენისთვის რეზისტენტულობა. HR-თან დამატებით, ბევრი ვირუსული რეზისტენტობის გენი ანიჭებს ექსტრემალურ რეზისტენტულობას (ER), რაშიც უჯრედთა სიკვდილი არ არის ინდუცირებული ვირუსების ინოკულაციის საფუძველზე, რომელიც დაუყოვნებლივ ხდება ვირუსის შეჭრის შემდეგ მცენარეულ უჯრედებში და ინჰიბირებს ვირუსების აკუმულაციას საწყის ეტაპზე ინვაზირებულ უჯრედებში [115].

1.19 ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქცია (HR)

ჰიპერმგრძნობელობა გამოიხატება როგორც ლოკალური და ზოგჯერ სისტემური ნეკროზის განვითარება ვირუსული ინფექციის შემდეგ. ზოგადად ის არის ვირუსული შტამების სპეციფიკური ნიშანი და უფრო არაეფექტურია, ვიდრე ვირუსის არანეკროზული შტამით გამოწვეული პროცესი. [116]. HR – ით ხდება მცენარეში ვირუსის გავრცელების პრევენცია. მცენარეები HR – ით ამჟღავნებენ ან

ადგილობრივ ნეკროზულ პათოლოგიურ ცვლილებას, რომლითაც ხორციელდება ინფექციის ფართოდ გავრცელების პრევენცია, ან სისტემური ნეკროზი. უმრავლეს შემთხვევაში ვირუსების დეტექტირება შესაძლებელია ვირუსით დაზიანებულ ფოთლებში. HR რეაქცია შესაძლოა გამოწვეულ იქნას გარემო პირობების მიერ ან მასპინძელი მცენარის ფიზიოლოგიით [117].

მონოგენური ჰიპერმგრძნობელობითი რეზისტენტულობა PVX, PVY და PVA მიმართ ნაჩვენებია ბევრ კარტოფილის ჯიშში და შესაძლოა ანიჭებდეს ვირუსებს სასარგებლო რეზისტენტულ გარემოს [118]. კარტოფილში ჰიპერმგრძნობელობითი რეზისტენტულობა PVX ინფექციის მიმართ განისაზღვრება ორი დომინანტური გენით, N_x და N_b [119]. PVX - ის იზოლატები განთავსებულია შტამების ჯგუფში მათი უნარის მიხედვით გამოავლინონ ჰიპერმგრძნობელობითი პასუხი კარტოფილის ჯიშებში რომლებიც არიან დომინანტური რეზისტენტური N_x ან N_b გენების მატარებლები. გენი N_b ანიჭებს პირველი და მეორე ჯგუფის შტამების PVX - ის შტამის წინააღმდეგ რეზისტენტულობას, მაშინ როდესაც გენი N_x ანიჭებს პირველი და მესამე ჯგუფის შტამების PVX - ის შტამის წინააღმდეგ რეზისტენტულობას [120]. N_b გენი ლოკალიზებულია V ქრომოსომის იმავე რეგიონში, რომელიც შეიცავს $Rx2$ - ს [121]. PVY^0 - ის მიმართ HR გამოხატულია გენოტიპებში, რომლებიც შეიცავს გენ $N_{y_{adg}}$ მაგრამ არ ანიჭებს რეზისტენტულობას PVY^N - ს; გენი N_{adg} ანიჭებს HR-ს PVA - ს *S. tuberosum* -ის ქვესახეობა *andigena* - ს გენი N_s , რომელიც მიღებულია *S. tuberosum* -ის ქვესახეობა *andigena* - სგან ანიჭებს რეზისტენტულობას PVS - ს კარტოფილში Rm გენი მემკვიდრეობით გადაეცემა *S. megistracrolobum* - სგან და ინდუცირებს ჰიპერმგრძნობელობით პასუხს კარტოფილში კარტოფილის M ვირუსის წინააღმდეგ. Rm განთავსებულია მე-11 ქრომოსომის მცირე ფრაგმენტში [122].

ჰიპერმგრძნობელობა არ არის გამოხატული იზოლირებულ პროტოპლასტებში, შემოთავაზებულია ქსოვილთან-დაკავშირებული ფენომენი, რომელიც გულისხმობს,

უჯრედიდან უჯრედზე გენების ექსპრესიას [123]. კარტოფილში HR რეზისტენტულობის ქვემოთ მოცემული მექანიზმი ჯერ კიდევ არ არის ნათელი, მაგრამ ზოგიერთი კრიტერიუმი შეიძლება შეგროვდეს თამბაქოს მაგალითზე. თამბაქოს N გენი შუამავლობს თამბაქოს მოზაიკური ვირუსის მიმართ რეზისტენტულობას (TMV) [124]. N გენის პროდუქტები არის ციტოპლაზმურად ლოკალიზებული პროტეინები protein sequence motif ცილები ცნობილია როგორც „ლეიცილით მდიდარი განმეორებები“ (LRR) [125]. N პროტეინები ჩნდებიან, რომ ამოიცნონ ვირუსების არსებობა დაკავშირებით „by binding“. არაპირდაპირი გზით, TMV რეპლიკაზა პროტეინების მიმართ. შედეგად მთელი რიგი საფეხურები არის დაფიქსირებული, რომელიც მასპინძელ ორგანიზმში აისახება ჰიპერმგრძნობელობით რეაქციაში HR. ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქციის დროს უჯრედები რომლებიც შეიცავენ ვირუსებს იღუპებიან, რაც ფოთლებზე აისახება მცირე ნეკროზული დაზიანებით.

1.20. ექსტრემალური რეზისტენტულობა (ER)

ექსტრემალური რეზისტენტულობა გამოიხატება მცირე ინფექციის კოეფიციენტით ინტაქტურ მცენარეებში, ვირუსების უკიდურესად მცირე ტიტრით ინფიცირებულ მცენარეში არ ვლინდება სიმპტომები, გარდა ზოგიერთ ჯიშში ინოკულირებული შეზღუდული სისტემური ნეკროზისა. სამხრეთ ამერიკაში არსებული ანდების რეგიონში, აღმოჩენილია PVX - ის რეზისტენტულობა დარღვეული იზოლატები [126,127]. აღნიშნული რეზისტენტულობის ტიპი, რომელიც ფუნქციონირებს თითოეული უჯრედის დონეზე [128] სავარაუდოდ არის რეზისტენტულობის საუკეთესო ტიპი კარტოფილის ჯიშებში. Rx გენი, PVX - ის გარსის ცილების ამოცნობის საბაზით არის მაღალეფექტური ვირუსების რეპლიკაციის ბლოკირების პროცესში და ასევე ინჰიბირებს ვირუსული რნმ-ის ტრანსკრიპციას მასპინძლის რიბოსომების მიერ [129].

მცენარეები ექსტრემალური რეზისტენტულობით ვირუსების მიმართ არ ავლენენ სიმპტომებს ან შეზღუდულ ნეკროზულობას (ძალიან მცირე დაზიანებებს, ლაქებს, ან ლოკალიზებულ ღეროს ნეკროზს) ვირუსით ინოკულირებისას. ვირუსების მხოლოდ მცირე რაოდენობა, ასეთის არსებობის შემთხვევაში, შესაძლოა აღმოჩენილ იქნას სენსიტიური ტექნიკის საშუალებით. ER ზოგჯერ განიხილება როგორც იმუნური პასუხი, ე.ი. მცენარეები არ ხდებიან ინფიცირებულნი და არ აქვს მნიშვნელობა რამდენად ძლიერია ინოკულუმის წნევა და შესაძლოა ჩაითვალოს ვირუსის „non-host“. თუმცა, როგორც ზემოთ იქნა ნაჩვენები, ყოველთვის მკაცრად ზუსტი არ არის. PVX, PVY და PVA მიმართ მონოგენური ექსტრემალური რეზისტენტულობა იქნა აღმოჩენილი მრავალ *Solanum* - ის სახეობის ტუბერებში და გამოყენებულ იქნა კარტოფილის ჯიშების სელექციის პროგრამაში.

PVX - ის მიმართ ექსტრემალური რეზისტენტულობა კონტროლდება დომინანტური გენების Rx1 და Rx2 - ით. Rx1 გენი ლოკალიზებულია მე-12 ქრომოსომაში, ხოლო Rx2 მე-5 ქრომოსომაში pedigree ანალიზის საფუძველზე, რომელიც წარმოშობილია დიპლოიდური მასისაგან სავარაუდოდ ის ნაწარმოებია *Solanum tuberosum* - ის *andigena* - ს ქვესახეობისგან და Rx2 გენი *Solanum acaule* – სგან) [130].

Rx ანიჭებს ექსტრემალურ რეზისტენტულობას PVX - ის ყველა შტამს, სამხრეთ ამერიკული HB შტამის გარდა [131].

PVX - ის მიმართ ER და HR და პოტივირუსები შესაძლოა მარტივად განისაზღვროს sap ან graft ინოკულაციით, თავდაცვით პასუხზე დაკვირვება და ინფექციის ტესტირება. ER-სა და HR-ს შორის ურთიერთკავშირის შესახებ იქნა შემოთავაზებული, იმიტომ რომ ნეკროზი შესაძლოა ზოგჯერ შესაძლოა არსებობდეს მცენარეში ER გენებთან ერთად [132,133].

გენი Ry ანიჭებს რეზისტენტულობის ER ტიპს PVY-ის წინააღმდეგ. Ry_{adg} გენი აღმოჩენილია *Solanum tuberosum* - ის *andigena* - ს და Ry_{chc} *S. chacoense* – ქვესახეობებში. მოთავსებულია მე-11 და მე-9 ქრომოსომაზე [134].

PVY-ის მიმართ ექსტრემალური რეზისტენტულობის სხვა გენები Ry_{sto} *S. stoloniferum* - სგან ასევე დატანილ იქნა იმავე პოზიციაზე როგორც Ry_{adg} მე-11 ქრომოსომაზე [135].

მოგვიანებით, აღმოჩენილ იქნა, რომ მცენარეული მასალის გენომი არ უნდა იყოს სარწმუნო [136]. საბოლოოდ, CAPS, STS, SSR, AFLP და ინტრონ-სამიზნე მარკერები, გენები მოთავსებულია მე-12 ქრომოსომაზე [137]. $Ry-f_{sto}$ მიღებულია *S. stoloniferum* - სგან განლაგებულია მე-12 ქრომოსომაზე [138]. შემოთავაზებულია, რომ $Ry-f_{sto}$ და Ry_{sto} ადგილმდებარეობები შესაძლოა წარმოადგენდეს ორ სხვადასხვა გენს PVY-ის მიმართ ექსტრემალური რეზისტენტულობისათვის, ორივე განლაგებულია მე-12 ქრომოსომაში [139]. Gm დომინანტური გენი ნაწარმოებია *S. gourlayi* და ანიჭებს ER-ს PVM-ს. ეს გენები მოცემულია კარტოფილის მე-9 ქრომოსომის ცენტრალურ რეგიონში [140]. Hinrichs et al., (1998) მიერ გადმოცემულია რომ PVY რეპლიცირდება საწყის ეტაპზე ინოკულირებული მცენარეების ინფიცირებულ მცენარეულ უჯრედებში ER Ry_{sto} გენტან ერთად და გადაიტანება მეზობელ უჯრედში წინამორბედი შეზღუდული ნეკროზული რეაქციის ინფექციის შეწყვეტის შემდეგ [141]. ER Rx_{adg} გენი Cara - ს ჯიშში დღესდღეობით აღმოჩენილია, რომ აკონტროლებს ცალ-ცალკე ვირუსის ვირუს რეზისტენტულობას და უჯრედის ლეტალურ პასუხებს [142]. ჩვეულებრივ უჯრედის კვდომა არ მიმდინარეობს მაშინ, როცა მცენარეები არიან Rx_{adg} მატარებელნი, არიან ინოკულირებულნი PVX - ით, იმიტომ რომ ER არის ეპისტატიკური HR-ზე. როდესაც სწავლობენ *S. stoloniferum* - ის გენებს, რომელთაც გააჩნიათ PVY - სა და PVA - ის მიმართ რეზისტენტობა Cockerham (1970) აღმოაჩინა გენები ER - თვის რომლებიც არიან დომინანტურნი ან ეპისტატიკური HR-ის

გენებთან მიმართებაში. Valkonen (1994) რომ ER გენი Ry_{adg} არის ეპისტატიკური HR გენთან მიმართებაში Ny_{adg} *andigena* – გან წარმოებულ გენოტიპებში.

ექსტრემალური რეზისტენტულობა PVA - ის მიმართ კონტროლდება დომინანტური გენით Ra [143]. აღნიშნული გენები განლაგებულია მე-11 ქრომოსომაში [144].

1.21. ინფექციის მიმართ რეზისტენტულობა

ჯიშები გენეტიკურად მგრძნობიარეა ვირუსის მიმართ, მაგრამ ბუნებრივ პირობებში არის შედარებით ნაკლებად მგრძნობიარე გენოტიპები მაღალი მგრძნობელობის მქონე გენოტიპებთან შედარებით, რომელთაც ეწოდებათ ველის რეზისტენტული გენოტიპები. ალტერნატიული და ნაკლებად დამაზნეველი დასახელება, რომელიც აღწერს ამ ტიპის რეზისტენტულობას ეწოდება „რეზისტენტულობა ინფექციის მიმართ“. ტერმინი აღწერს სიტუაციას, როდესაც მაღალია ინფექციის ალბათობა, ბუნებრივი გზით, შემცირებულია რეზისტენტულ მცენარეებში, მაგ. რაოდენობრივი რეზისტენტულობა PLRV-ის მიმართ ზოგიერთ მცენარეში, მოიცავს რეზისტენტულ კლონებს ან კულტივარებს, რომლებიც ინფიცირდებიან ბუგრების მიერ საველე პირობებში [145]. ინფექციის მიმართ რეზისტენტულობა PLRV-ით, შესაძლოა იყოს რამდენიმე განსხვავებული მექანიზმის შედეგი, რომელიც აზიანებს ვექტორს. აღნიშნული რეზისტენტულობის ტიპი, პოლიგენური მემკვიდრეობით არის გადაცემული [146]. PLRV - ის მიმართ რეზისტენტულობა ზოგიერთ გერმანულ ჯიშში სჩანს, რომ მიღებულია გენეტიკური ინფორმაციის გადმოცემით სახეობებს შორის შეჯვარების შედეგად *Solanum demissum* - სგან [147]. რაოდენობრივი რეზისტენტულობა PVY - ინფექციის მიმართ, *S. phureja*-გან (Davidson, 1980). ითვლება, რომ აღნიშნული რაოდენობრივი რეზისტენტულობა PVY - ის მიმართ უნდა იყოს უფრო მეტად მყარი მთავარ გენ-რეზისტენტულობასთან

შედარებით, მაგრამ ექსტრემალური რეზისტენტულობა (ER) და ჰიპერმგრძნობელობითი რეზისტენტულობა (HR) მინიჭებულია ერთეული დომინანტური გენების მიერ, რომლებიც განაპირობებენ მცენარის ეფექტურ დაცვას.

1.22. მცენარის რეზისტენტულობა ვირუსების აკუმულაციის (დაგროვების) მიმართ

მცენარეებს რომელთაც აქვთ რეზისტენტულობა ვირუსების აკუმულაციის მიმართ შესაძლოა დაინფიცირდნენ, მაგრამ ვირუსები აღწევენ მცენარეში შედარებით მცირე კონცენტრაციით. მსგავსი ტიპის რეზისტენტულობამ PLRV - სთვის აჩვენა *S. Tuberosum* - ის ჯიშების სელექციის ხაზების ფარგლებში [148]. რეზისტენტული ტეტრაპლოიდური გენოტიპების უმრავლესობა 1-5% PLRV - ის კონცენტრაცია აღმოჩენილია მგრძნობიარე კლონებში. რეზისტენტულობის აღნიშნული ტიპის უპირატესობა არის ის რომ ვირუსების შეძენა და მათი გავრცელება ბუგრების მიერ სხვა მცენარეებზე ნაკლებად მოსალოდნელია [149]. იმისათვის რომ შეფასდეს რეზისტენტულობა PLRV - ის აკუმულაციის მიმართ, მცენარეები შესაძლოა იყვნენ დაინფიცირებულნი და ვირუსის კონცენტრაცია შესაძლოა განსაზღვრულიყო რაოდენობრივი ELISA მეთოდით [150]. აღმოჩენილია რომ ყველაზე მეტად სარწმუნო და თანმიმდევრული შედეგები იქნა მიღებული tuber-progeny მცენარეების კონტროლით (შემოწმებით) (მეორადი ინფექცია). თუმცა, დღესდღეობით, რაოდენობრივი PCR-ის (q-PCR) შედეგი უფრო მეტად სარწმუნოა. PVX-ისა და PVY-ის აკუმულაციის რეზისტენტულობის მაღალი დონე, როგორც მაგალითად *S. brevidens* - ში აღმოჩენილია (Gibson et al., 1990) მიერ. აღნიშნული რეზისტენტულობა *S. Tuberosum*-ში გადაეცემა სომატური ჰიბრიდიზაციით, ცხადი იყო რომ გენები რომლებიც აკონტროლებენ რეზისტენტულობას PLRV-ის მიმართ განსხვავდება PVX-ისა და PVY-ის მაკონტროლებელი რეზისტენტულობისგან და ეს გენები რომლებიც ანიჭებენ რეზისტენტულობას PVX-სა და PVY-ს არიან შეეჭიდული [151]. *S. brevidens*-

ში რეზისტენტულობა PVX-ისა და PVY-ის მიმართ ითვლებოდა, რომ იყო ასოცირებული უჯრედიდან-უჯრედზე ნელა გავრცელებად ვირუსებთან [152].

1.23. მცენარეში ვირუსების გადაადგილების მიმართ რეზისტენტულობა

ვირუსების გადაადგილების მიმართ რეზისტენტულობა გაზრდილია იქ, სადაც ვირუსების გაადგილება მცენარეში ფერხდება და ინფიცირდება ტუბერების მცირე რაოდენობა. აღნიშნული ტიპის რეზისტენტულობა ცნობილია ზოგიერთ კარტოფილის კლონში PLRV-ის მიმართ [153]. ზოგიერთ შემთხვევაში იგი ასოცირდება ფლოემის ნეკროზთან როგორც კულტივარებში Bismark [154] და Apta [155]. ფლოემაში ვირუსის ტრანსპორტირების მიმართ რეზისტენტულობა ნაჩვენებია იქნა Bismark - ის ჯიშის მაგალითზე Wilson-ისა და Jones - ის მიერ (1992), ასევე აღმოჩენილია, რომ აღნიშნული წარმოადგენს ცალკეულ რეზისტენტულობას და ემიჯნება რეზისტენტულობა ვირუსების აკუმულაციის და ინფექციის მიმართ რეზისტენტულობას [156]. შესწავლილ კლონების რიცხვში ფლოემაში ტრანსპორტი არ იყო შეფერხებული [157]. მაგრამ ვირუსების აკუმულაცია საკმაოდ იყო შეზღუდული ფლოემის ინტერნალურ პარკებში (მაშინ როდესაც მგრძნობიარე კლონებში ვირუსები აკუმულირებულია ფლოემის ინტერნალურ და ექსტერნალურ ქსოვილში). Swiezynski et al., (1989) აღმოაჩინა PLRV - ის მაღალი დონე ასოცირებული რეზისტენტულობასთან, ვირუსის შეზღუდული გავრცელება კარტოფილის ოთხ დიპლოიდურ კლონში [158]. HR შესაძლოა ჩაითვალოს როგორც ვირუსის გადაადგილების მიმართ რეზისტენტულობის ტიპი, რადგან გადაადგილება არის შეწყვეტილი ან შეფერხებული უჯრედის დაღუპვით. PLRV-რეზისტენტულობის კომპონენტების ფენოტიპურმა შეფასებამ *S. Tuberosum* andigena-ს ქვესახეობის ჯიშები, ინფექციის მიმართ გამოავლინა რეზისტენტულობის მაღალი დონე. [159].

1.24. მტკიცე მცენარეთა რეზისტენტულობა

ყველაზე მეტად მოსავლის ზრდა ინოკულაციის დროს, ნაკლებად მოსალოდნელია რომ შვილეული ტუბერები არ გახდნენ ინფიცირებულნი. ეს იმიტომ რომ ვირუსის რეპლიკაცია ინოკულაციისა და ტრანსლოკაციის ადგილზე ტუბერების მიმართ, შესაძლოა იყოს უფრო ნელი მცენარეებში, რომლებიც ამჟღავნებენ მტკიცე მცენარეულ რეზისტენტულობას ვიდრე ის მცენარეებში, რომლებშიც არ მჟღავნდება მსგავსი ტიპის რეზისტენტულობა. მოსავლის სიმწიფემდე დიდი ხნით ადრე, ინოკულირებული ფოთლებიდან ვირუსი წყვეტს გადაადგილებას [160]. მტკიცე მცენარის რეზისტენტულობა ნაჩვენებია იქნა PLRV, PVM, PVS, PVX და PVY⁰ მიმართ, მაგრამ ზოგიერთი ვირუსი (მაგ. PVY^N) მსგავსი ტიპის რეზისტენტულობა ვითარდება მოგვიანებით [154], რაც ხსნის თუ რატომ არის უფრო რთული PVY^N-ის კონტროლი PVY⁰ - თან შედარებით. მტკიცე მცენარეული რეზისტენტულობა იწყებს განვითარებას დაახლოებით იმ დროს როდესაც ტუბერების სტიმულირება და შესაძლოა დამთავრდეს 4 კვირის შემდეგ. აღნიშნული ხდება ჯიშების უმეტესობაში, მაგრამ მათი დეტალური დახასიათება არის ჯიშ-სპეციფიკური და განსხვავდება ვირუსების, ვირუსული შტამების და გარემო პირობების მიხედვით [161]. რასაკვირველია, ძალიან მნიშვნელოვანია ამოიცნო რომელი ტიპის რეზისტენტულობა მოქმედებს, ნაკლებად სავარაუდოა, რომ აღნიშნული რეზისტენტულობის ტიპი გამოყენებულ იქნას ჯიშის სელექციის პროგრამაში.

1.25. მცენარეთა ტოლერანტობა დაავადებების მიმართ

ტოლერანტული ჯიშები შესაძლოა განისაზღვროს ისე რომ ის არ ამჟღავნებს არანაირ სიმპტომებს ან თუნდაც მცირე აშკარა სიმპტომებს მცენარის დაზიანების პროცესში. მიხედვად იმისა, რომ ტოლერანტობა შეიძლება გამომჟღავნდეს როგორც

ღირებული ნიშანი, მას მოაქვს დიდი ზიანი სანამ ტოლერანტული ჯიშები არიან მგრძობიარე გენოტიპები, რომლებზედაც ვლინდება ნაკლები ზარალი ინფიცირების დროს სხვა მგრძნობიარე ჯიშებთან შედარებით და მნიშვნელოვანია, რომ მათ შეუძლიათ შეასრულონ ვირუსების რეზერვუარის როლი. „ტოლერანტურობის“ ძირითადი მიზეზები არის განსვავებული იმისათვის რომ მოხდეს იდენტიფიცირება და შესაძლოა დაკავშირებული იყოს მცენარის ბევრ ფაქტორთან, რომელიც გავლენას ახდენს ვირუსული ნაწილაკების რეპლიკაციასა და გადადგილებაზე, ასევე დაავადების სიმპტომების გამოვლენაზე. ვირუსის გავრცელების რისკი დაზიანებული, უსიმპტომო წყაროებიდან იზრდება ახლომდებარე ჯანმრთელ მასალაზე ან ნიადაგში გავრცელებული ვირუსები, რომლებიც გადაიტანება არაინფიცირებულ ადგილებზე [162].

1.26. რეზისტენტულობა ვირუსული ვექტორის მიმართ

ბუგრ-ვექტორის მიმართ რეზისტენტულობა დაიკვირვებოდა *Solanum*-ის სახეობებში და შესაძლოა იყოს ეფექტური, ჯიშების სელექციისათვის და ეხმარება შეამციროს ვირუსის გავრცელება, აგრეთვე იქედან გამომდინარე რომ ბუგრები თავისთავად იწვევენ მოსავლის მნიშვნელოვან ზიანს. რეზისტენტულობის საიმედო ტიპი აღმოაჩინეს ველურ გვარი *Bolivian* - ის კარტოფილის სახეობა *Solanum berthaultii* -ში. აღნიშნული სახეობა ფლობს ორი ტიპის ჯირკვლოვან ბუსუსებს: A-ტიპის ბუსუსები, ფიზიკურად იჭერს ბუგრს და B-ტიპის ბუსუსები, რომლებიც თითქოს ხაფანგში აბავს ბუგრებს, იწყებენ მათთან ბრძოლას და შემდეგ A-ტიპის ბუსუსები ერთვებიან პროცესში და ანადგურებენ მწერებს [163]. დამატებით B-ტიპის ბუსუსები წარმოადგენენ (E)- farnescene - ის წყაროს, რომელიც არის მთავარი კომპონენტი ე.წ. განგამის ფერომონების ბუგრებთან უმრავლესობაში და მათი ქიმიური მოქმედება მდგომარეობს მწერების მოგერიებაში კერძოდ *M. persicae* წინააღმდეგ და ინდუცირებენ ფოთლებიდან ბუგრების სწრაფად გაფანტვის პროცესს [134].

Rizvi და Raman - მა გამოიკვლიეს *Solanum berthaultii* ორი ვარიანტი (გაერთიანება), ერთი A-ტიპის და B-ტიპის ბუსუსებით და მეორე მხოლოდ A-ტიპის. ორივე ვარიანტი მგრძნობიარე იყო PVY-ისა და PLRV-ის მიმართ. ველზე გამოკვლევის დროს, ორივე ვარიანტი დაუცველი იყო ბუგრების ინფექციისგან ვირუსების მიერ და ორივე თანაბრად იყო ინფიცირებული PVY-ით, გამოვლინდა რომ A-ტიპის და B-ტიპის ბუსუსები არანაირ ზემოქმედებას არ ახდენდნენ PVY-ის გავრცელებაზე. თუმცა, PLRV-ის გავრცელება მნიშვნელოვნად მცირდებოდა B-ტიპის ბუსუსების მიერ (გავრცელების 22% A-ტიპის და B-ტიპის ბუსუსებით და 84% მხოლოდ A-ტიპის შემთხვევაში) [146]. დამტკიცებულია, რომ რთულია B-ტიპის გამომწვევი გენების გაერთიანება. Kalazich და Plaisted - მა (1991) აღმოაჩინეს რომ მცენარეებს, რომელთაც ახასიათებთ ჯვარედინი შეჯვარება *S. berthaultii*-სა და *S. tuberosum*-ს შორის, დაფიქსირდა ძლიერი გაერთიანება B-ტიპის ტრიქომების არსებობას შორის და არასასიამოვნო მახასიათებლები როგორიცაა მცირე მოსავლიანობა, ცოტა რაოდენობის ტუბერები და გვიანი სიმწიფე [149]. არ არსებობს არანაირი წყარო რეზისტენტულობის და ტოლერანტობის კარტოფილის mop-top (PMTV) ვირუსის მიმართ, რომელიც შეგნებულად იქნებოდა გამოყენებული ჯიშების სელექციის პროგრამაში, მაგრამ რეზისტენტულობა *Spongospora subterranea* - ს (PMTV-ის ვექტორი) მიმართ აღმოჩენილია *Solanum* - ის სახეობებში და გარკვეულ *S. tuberosum* - ში, თუმცა უცნობია თუ როდის ვითარდება რეზისტენტულობა, რომელიც ანიჭებს დამცველობით რეაქციას კარტოფილს, PMTV ინფექციის წინააღმდეგ.

1.27. ვირუსული დაავადებების მართვა

ბოლო წლების განმავლობაში ბევრ ცვლილებას ჰქონდა ადგილი კარტოფილის ვირუსების მართვასთან დაკავშირებით. კარტოფილის ინდუსტრიამ, გაატარა ეფექტური კონტროლი X (PVX), Y (PVY), და კარტოფილის სიხუჭუჭის ვირუსზე (PLRV). იმისათვის რომ მომხდარიყო ვირუსული პათოგენების გავრცელების მინიმალიზაცია, გამოყენებულ იქნა მულტიდისცპილინარული მიდგომა (HA). ვირუსების გადამტანების ქიმიური კონტროლი, მაგ. ბუგრების, რაც PVY, PLRV, PVA და სხვა ვირუსების გავრცელების შეზღუდვის ეფექტური საშუალებაა; სათესლე მასალის სასერტიფიკაციო პროგრამა, რომელიც იცავს ფერმერებს ფალსიფიცირებული სათესლე მასალისგან და ამასთან ერთად ზღუდავს ვირუსების და მათი რეკომბინატების (PVX, PVS, PVM და სხვა) გავრცელებას; ვირუსული დაავადების მიმართ გამძლე ჯიშების გამოყენება/გამოყვანა, რაც განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია იმ ქვეყნებში, სადაც სასერტიფიკაციო სისტემა ფართოდ არ არის ყოველივე ზემოთქმულმა გამოიღო შედეგი და მსოფლიოს განვითარებულ ქვეყნებში PVX- ვირუსი სტანდარტული ტესტირების დროს თითქმის აღარ წარმოადგენს პრობლემას. აღსანიშნავია, რომ ვერ ხერხდება მთლიანად PLRV-ვირუსის დონის დაწევა, როგორც მოხდა PVX, PVM, და PVS ვირუსების შემთხვევაში. ვინაიდან ის განიცდის დიდ ფლუქტუაციას, ანუ ცვალებადობს და ეს დამოკიდებულია მწერის პოპულაციის რაოდენობაზე. და ფერმერის ძალისხმევაზე, თუ რამდენად შეზღუდავს ინსექტიციდებით მწერების რაოდენობას. PVY-ვირუსის გავრცელება მასშტაბურია მთელს მსოფლიოში, რადგან PVY-ვირუსი აინფიცირებს რამოდენიმე სხვა კულტურასაც როგორიცაა: თამბაქო, პამიდორი და წიწკა და სხვა (reviewed by Kerlan 2006). დაახლოებით 400 მდე PVY-ვირუსის მასპინძელი მცენარე უკვე აღმოჩენილი. [164], და სხავარუდოა რომ კიდევ არსებობენ ისეთი მცენარეები რომელნიც შეიძლება ვირუსული პათოგენი რეზერვუარს წარმოადგენდნენ.

დაავადების წარმატებით მართვისათვის, გარდა იმისა რომ აუცილებელია დაავადების გამომწვევის ბიოლოგიის ცოდნა, ამასთან ერთად აუცილებელია სწორი აგროტექნიკური ღონისძიებების დანერგვა. მაგ; ის მეთოდები რომლებიც გამოიყენება PVY და PLRV ვირუსების გასაკონტროლებლად, არაეფექტურია PVX ვირუსის გასაკონტროლებლად ვინაიდან დაავადება ვრცელდება მექანიკური გზით და ინსექტიციდების გამოყენება არის არაეფექტური. ასევე აუცილებელია არსებობდეს სწორი აგროტექნიკური ცოდნა, რათა მოხდეს დაავადების გავრცელების შეზღუდვა.

დაავადების მიმართ მდგრადი ჯიშების გამოყვანა გამოყენება წარმოადგენს კარტოფილის ვირუსების კონტროლის ერთ ერთ ძირითად საშუალებას. დღეს დღეობით უკვე არსებობენ ჯიშები, რომელნიც მდგრადნი არიან PVX, PVY, PLRV და სხვა ვირუსების მიმართ. გარდა ამისა, მცენარეები იძენენ ახალ თვისებებს როგორც არის: უხვმოსავლიანობა, ყინვაგამძლეობა, ნაადრევი სიმწიფე და სხვა. აღნიშნული ჯიშების გამოყენებას გააჩნია დიდი მნიშვნელობა, როგორც ვირუსული დაავადებების მართვის მხრივ ასევე იზრდება რენტაბელობა და მატერიალური რესურსებისა და საშუალებების ეკონომია. ამ მიმართულებით გასათვალისწინებელია ახალი PVY(P^{NW}, P^{NTN}, P^N, და ა.შ) რეკომბინატული შტამები, ვინაიდან უმეტეს შემთხვევაში ისინი გვერდს უვლიან მცენარის რეზისტენტობას და იწვევენ დიდი დანაკარგებს.

1.28. სათესლე მასალის სერტიფიცირება მსოფლიოსა და საქართველოში

სათესლე კარტოფილის სერტიფიცირების და მისი სისტემის განვითარების ეტაპები განსხვავებულია მსოფლიოს სხვადასხვა ქვეყნებში. კარტოფილის სათესლე მასალის სერტიფიცირება უზრუნველყოფს კარტოფილის დაავადებებისაგან დაცვას და მის მაღალ მოსავლიანობას. ქვეყანაში სერტიფიცირების წესებისა და რეგულაციების ზედმიწევნით ზუსტად შესრულება კარტოფილის უვირუსო სათესლე მასალის არსებობის ძლიერი საწინდარია. მომხმარებელს არა აქვს

საშუალება პირადად გაეცნოს კარტოფილის სათესლე მასალის მეურნეობის ფიტოსანიტარულ მდგომარეობას. ამიტომ მას შეუძლია ენდოს სერტიფიკატს, რომელიც გაცემულია შესაბამისი კვალიფიკაციის მქონე ლაბორატორიის მიერ და რომელიც ადასტურებს ამ სათესლე მასალის ხარისხს (შესაბამისობას სტანდარტთან). კარტოფილის სათესლე მასალის სერტიფიცირების პროგრამა პირველად შეიქმნა ევროპაში გასული საუკუნის დასაწყისში. 1920 წლიდან ის ოფიციალურად დაინერგა ჩრდილოეთ ამერიკაშიც. საინტერესოა სერტიფიცირების სისტემის განვითარების ისტორია აშშ-ში. ამჟამად აშშ-ს ყველა შტატს აქვს განსხვავებული საკანონმდებლო ბაზა და სერტიფიცირების სააგენტო, რომლის მართვაში მონაწილეობენ შტატის სოფლის მეურნეობის დეპარტამენტი, შტატის სახელმწიფო უნივერსიტეტები (Land-grant Universities) და ფერმერთა გაერთიანებები.

იმისათვის, რომ მწარმოებელმა მოიპოვოს კარტოფილის სათესლე მასალის სერტიფიკატი, აუცილებელია, რომ თესლი აკმაყოფილებდეს ქვეყანაში დადგენილ ნორმებსა და მოთხოვნებს. სერტიფიცირების ორგანოების ინსპექტორები მეურნეობას საკმაოდ დეტალურად ამოწმებენ. პირველ რიგში მოწმდება მწარმოებლის *in vitro* ლაბორატორია, სათბური და მინდორი, სადაც მრავლდება კარტოფილის სათესლე მასალა. თუ რომელიმე მათგანი არ აკმაყოფილებს სტანდარტს, სერტიფიკაციის სააგენტო ფერმერს/მწარმოებელს აძლევს ვადას და რეკომენდაციებს, რომ აღმოფხვრას ეს პრობლემა. ამის შემდეგ სწავლობენ სათესლე მასალის წარმომავლობას, ადგენენ ჯიშის იდენტობას და აფასებენ მასალის დაინფიცირების დონეს.

ყველა ქვეყანას აქვს დაავადებების გამომწვევ ორგანიზმთა წინასწარ დამტკიცებულია სია, რომელთა არსებობა კარტოფილის სათესლე მასალაში აკრძალულია ან მათი რაოდენობა არ უნდა აღემატებოდეს გარკვეულ ზღვრულ მაჩვენებლებს. საილუსტრაციოდ მოგვყავს ბაქტერიული, ვირუსული და სოკოვანი დაავადებების გამომწვევი ორგანიზმების სია, რომელიც ევროპის სერტიფიცირების

სისტემის მიერ არის დამტკიცებული: *Erwinia spp.*, *Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganense pv sepedonicum*, *Spongospora subterranea*, *Rhizoctonia solani*, კარტოფილის ფოთლის სიხუჭუჭის ვირუსი (PLRV), კარტოფილის ვირუსი A (PVA), კარტოფილის ვირუსი M (PVM), კარტოფილის ვირუსი S (PVS), კარტოფილის ვირუსი X (PVX), კარტოფილის ვირუსი Y (PVY), პომიდვრის ლაქიანობის ვირუსი (TSW), კარტოფილის ტუბერის რგოლური ვიროიდი, (PSTV) იონჯას მოზაიკური ვირუსი, *Helminthosporium sp.*, *Phoma exigua*, *Fusarium spp.*, *Verticillium spp.*, *Colletotrichum coccodes*, *Phytophthora infestans*, *Streptomyces sp.* ამ დაავადებების მიხედვით სათესლე მასალის მოლეკულურ-ბიოლოგიური დახასიათება და შედეგად მათი არარსებობა, სერტიფიკატის მიღების აუცილებელი პირობაა.

ევროპაში კარტოფილის სათესლე მასალაზე სერტიფიკატის გაცემის უფლება მხოლოდ ევროპის ეროვნული სათესლე კარტოფილის სერტიფიცირების ორგანიზაციის მიერ აკრედიტებულ კომპანიებს აქვთ. ევროპის ეროვნული სტანდარტების განვითარებაში აქტიურად მონაწილეობდნენ ადგილობრივი ფერმერები და უნივერსიტეტები, რამაც ხელი შეუწყო ყველა იმ პრობლემის გადაჭრას, რომლებიც აფერხებდა ქვეყნის მეკარტოფილეობის განვითარებას. ევროპისა და სხვა ქვეყნების სერტიფიცირების ეროვნული სისტემები მკაცრ მოთხოვნებს უყენებს კარტოფილის სათესლე მასალის მეურნეობას. მნიშვნელოვანია შემდეგი პირობები:

- ნიადაგის შემოწმება 2-3 ჯერ წელიწადში;
- წმინდა ხაზის ჯიშის დაცვა;
- საწყის სათესლე მასალად უნდა გამოიყენებოდეს ქსოვილური კულტურის მეთოდით მიღებული სათესლე მასალა;
- მოსავლის აღების წინ ვირუსზე მოწმდება ტუბერები;
- სათესლე მასალის დაცვა საკარანტინო საფრთხეებისგან;

- რეგულარულად უნდა გამოიყენებოდეს PCR, RT-PCR, ELISA-DAS, მეთოდი Y, PLRV, X/S, და A კარტოფილის მცენარეებში ვირუსების გამოსავლენად.

სათესლე კარტოფილი იყოფა ორ ძირითად კატეგორიად. პირველი, უფრო მაღალი ხარისხის მასალა გამოიყენება სათესლე კარტოფილის საწარმოებლად, ხოლო მეორე - სუფრის ანუ საკვები კარტოფილის მოსაყვანად, სადაც დასაშვებია ინფექციის დონე ტუბერებში ვირუსის არსებობა 0.5-2%-ის ფარგლებში [165]. პირველი კატეგორიის სათესლე მასალას ფიტოსანიტარული თვალსაზრისით უფრო მაღალი მოთხოვნები წაეყენება, ვიდრე მეორე კატეგორიის თესლს.

სერტიფიცირების სისტემა ხელს უწყობს ვირუსების გავრცელების შემცირებას. ვირუსების სრული აღმოფხვრა შეუძლებელია [137]. დროთა განმავლობაში ჩნდებიან ვირუსების ახალი შტამები, რომლებმაც საფრთხეს უქმნიან სერტიფიცირების პროგრამის შედეგიანობას. ეს არის RNA-ის გენომის შემცველი ვირუსები, რომლებსაც აქვთ *Potyvirus*, *Potyvirus* და *Carlavirus* გვარის ვირუსების გენები [139] იცვლება ვირუსების გავრცელების სურათიც. მაგალითად აშშ-ში კარტოფილის PLRV ვირუსის გავრცელება მცირდება, მაგრამ იზრდება კარტოფილის ვირუსი A(PVA)-ის გავრცელება. აშშ-ში ყველაზე გავრცელებული კარტოფილის ვირუსებია: Y (PVY) და S (PVS) [141]. აშშ-ში კარტოფილის სათესლე მასალაში PVY-ვირუსი არის ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული ვირუსი. აშშ-ი არსებობს შტატები, სადაც მხოლოდ ამ სახის ვირუსი გვხვდება და სავალალო შედეგი მოაქვს. მაგალითად, ვისკონსინში სადაც PVY არის ერთადერთი ვირუსი, ის იწვევს სათესლე კარტოფილის ვირუსულ დაავადებას და მნიშვნელოვან ზარალს აყენებს ფერმერებს [166].

ბოლო დროს გავრცელდა ნეკროზული შტამები, რომელიც ძალიან სახიფათოა და მოითხოვს კარტოფილის სერტიფიცირების პროგრამებისგან პრევენციული ღონისძიებების შემუშავებას.

2. მასალები და მეთოდები

2.1. ნიმუშების შერჩევა და ვირუსების დადგენა

საქართველოს სამი ძირითადი კარტოფილის წარმოების რეგიონებიდან: ახალქალაქი, ახალციხე, მარნეული მოპოვებულ იქნა კარტოფილის 9 ჯიშის 120 სათესლე ტუბერი. თითოეული ტესტ-ტუბერისგან აღებულ იქნა 3-4 ამონაყარი, რის შემდეგაც მოხდა მათი ჰომოგენიზაცია PBS (0.15 მოლარულ ნატრიუმის ქლორის, pH 7.2,) ბუფერით. ჰომოგენატის ინოკულაცია მოხდა თამბაქოს ფოთლებზე (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) მექანიკური შეზღუდვით კარბორუნდის თანაობით. აღსანიშნავია, რომ თამბაქოს ჯიში Samsun აღიარებულია როგორც კარტოფილის ვირუსების სიმპტომების გამოსამჟღავნებელ საერთაშორისო სტანდარტად. ინოკულრებული მცენარეები იზრდებოდა მწერებისაგან თავისუფალ სათბურში გერმანიის ფედერალური კვლევითი ინსტიტუტის Julius Kuhn ბაზაზე. მცენარეების გაზრდისათვის გამოყენებოდა 20-26 °C ტემპერატურა და 16 საათიანი განათება. PVY ვირუსის რეკომბინანტული საკონტროლო შტამები შეძენილ იქნა კომპანია AGDIA-დან.

2.2. ვირუსების იდენტიფიცირება იმუნოფერმენტული ELISA მეთოდით

კარტოფილის ვირუსული დაავადებების სეროლოგიური მეთოდებიდან ყველაზე თანამედროვე და ეფექტურია იმუნოფერმენტული ანალიზის მეთოდი (DAS-ELISA). მეთოდის არსი მდგომარეობს ანტისხეულების სპეციალური ფერმენტით მონიშვნის შესაძლებლობაში, რაც საშუალებას იძლევა, შემდგომი იმუნორეაქცია ანტისხეულსა და ანტიგენს შორის გახდეს ადვილად აღქმადი და რაოდენობრივად დათვლადი.

ვირუსის იზოლაციისათვის თითოეული ტესტ-ტუბერისგან აღებულ იქნა 3-4 ნიმუში, რის შემდეგაც მოხდა მათი ჰომოგენიზაცია PBS (0,15 მოლ, ნატრიუმის ქლორი ბუფერი, pH 7.2, 0.15 NaCl) ბუფერით.

ნიმუშების ანალიზი მოხდა DAS-ELISA [130] – AGDIA კომერციული კიტების გამოყენებით, ვირუსების: PVX და PVY, PLRV, -ის დეტექციისათვის.

საწყის ეტაპზე მიკროტესტ ჯამებზე ბუფერში (0,16% Na_2CO_3 , 0,16% NaHCO_3 3,1% NaN_3 , pH 9.6), შეტანილ იქნა ანტისხეულ - IgG-ის ფრაქცია განზავებით 1:200 რომელიც არის სპეციფიკური კარტოფილის PVY, PLRV, PVX, PVS ვირუსის მიმართ). საინკუბაციო ჯამები თერმოსტატში იმყოფებოდა 37°C -ზე 4 საათის განმავლობაში. PBS ბუფერით (4%NaCl, 0,72 % Na_2HPO_4 , 0,1% KH_2PO_4 , 0,1% KCl pH 7.3) გარეცხვის რამდენიმე საფეხურის შემდეგ, მოცილებულ იქნა არაბმული ანტისხეულები. შემდეგ ეტაპზე ყოველ ჯამს დაემატა 100 μl კარტოფილის ექსტრაქტი, რომელიც მომზადებულ იქნა Pollahne-ის პრესირების გზით. პრესირების პროცესში, ყველა ნიმუშს დაემატა 500 μl საექსტრაქციო ბუფერი (PBS ბუფერი 0,2%-იანი მშრალი რძე და 2% -იანი პოლივინილპიროლიდონი 25). IgG ანტისხეულების ინკუბაციის ეტაპი გრძელდებოდა 15 საათის განმავლობაში 4°C -ზე. ჯამების PBS ბუფერით გარეცხვის შემდეგ, არაბმული ანტიგენების მოშორების მიზნით, განხორციელდა 100 μl ენზიმ-შეკავშირებული მეორადი ანტისხეულებით (alkaline phosphatase conjugate ტუტე-ფოსფატი, განზავება 1:1000 PBS ექსტრაქტ-ბუფერში) ზემოქმედება. ჯამები დაყოვნდა 4 საათის განმავლობაში 37°C -ზე. ჯამების კვლავ მორეცხვის შემდეგ, ყოველ ჯამს სუბსტრატ ბუფერში დაემატა (9,7% დიეთანოლამინი, 0, 2 მმოლ NaN_3 და 20% MgCl_2 , pH 9.8) გახსნილი 0.1%-ანი პარანიტროფენილფოსფატი. ოთახის ტემპერატურაზე 1 საათის განმავლობაში ინკუბაციის შემდეგ ჩატარდა ტესტი ELISA-ს ფოტომეტრის მეშვეობით, 405 ნმ ტალღის სიგრძეზე. მცენარე ითვლებოდა ინფიცირებულად თუ ექსტენცია აღემატებოდა 0.1-ს ნიშნულს. აღნიშნული ნიშნულის გამოთვლა ხორციელდება, აპარატის მიერ, ვინაიდან სატესტო გაშვების

დროს ითვლება, როგორც პოზიტიური ნიმუში ასევე ეგატიური ნიმუში. დაანგარიშების მიხედვით 0.1 ნიშნულს მაღლა ითვლებოდა დადებით შემთხვევად [132].

2.3. კარტოფილიდან ვირუსული რნმ-ის ექსტრაქცია

როგორც უკვე ავღნიშნეთ, კარტოფილის ვირუსებს წარმოადგენენ რნმ შემცველ ვირუსებს. მათი იდენტიფიკაციისათვის თამბაქოს ფოთლებიდან ხდებოდა ტოტალური რნმ-ის ექსტრაქცია კარტოფილის Qiagen - რნმ-ის ექსტრაქციის კიტის მეთოდი. მცენარეულის მასალის ჰომოგენიზირება ხდებოდა თხევადი აზოტის თანაობისას ამასთან ერთად მიმდინარეობდა ჩვენს მიერ შემუშავებული რნმ-მეთოდის გამოყენება:

1. ჰომოგენატს ემატებოდა 450 μ l RLT ბუფერი ვორტექსირებით.
2. იკუბაცია 3 წუთი 56°C .
3. Qiashredder სვეტზე ხდებოდა ლიზატის ცენტრიფუგირება 15.000 rpm (21,500xg) 2 წუთის განმავლობაში.
4. ფილტრატი გადაგვქონდა ახალ 2 მლ-იან ეპენდორფის სინჯარაში.
5. ფილტრატს ემატებოდა მისი რაოდენობის 0.5 რაოდენობა 96% (v/v) ეთანოლი, და ხდებოდა მისი შერევა პიპეტის მეშვეობით
6. RNeasy სვეტის ემატებოდა 650 მკლ ლიზატი და ხდებოდა მისი ცენტრიფუგირება 9.200 rpm-ზე (80, 00xg) 15 წამის განმავლობაში.
7. ცენტრიფუგირების შედეგად მიღებული ხსნარის ვლვრიდით, ხოლო სვეტს ვასუფთავებდით 700 μ l RW1 ბუფერით, ცენტრიფუგირება 200 rpm-ზე (80, 00xg) 2 წუთის განმავლობაში.
8. სვეტის გარეცხვა ასევე ხდებოდა 500 μ l RPE ბუფერით, ცენტრიფუგირება 200 rpm-ზე (80, 00xg) 2 წუთის განმავლობაში

9. საბოლოო ელუციისათვის, სვეტის ცენტრზე დაგვქონდა 50 μ l ორმაგად გამოხდილი წყალი და ვახდენდით ცენტრიფუგირებას 9.200 rpm (8,000xg) ბრუნზე 1 წუთის განმავლობაში.

2.4. ოლიგონუკლეოტიდური თანმიმდევრობების შერჩევა

ოლიგონუკლეოტიდური პრაიმერების შესყიდვა ხორციელდებოდა კომპანია Integrated DNA Technologies (IDT). ოლიგონუკლეოტიდური თანმიმდევრობების მოსაძიებლად გამოიყენებოდა პროგრამა LASERGEN 9.0-ით, რომლის მეშვეობითაც ხდებოდა NCBI ბაზიდან მოპოვებული სეკვენსების და ამასთან ერთად ჩვენს მიერ შემუშავებული ოლიგონუკლეოტიდური თანმიმდევრობების შექმნა. კვლევის ფარგლებში გამოიცადა 30 ოლიგონუკლეოტიდური თანმიმდევრობები, როგორც რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაციაში, ასევე სეკვენირების დროს. კვლევის ფარგლებში გამოყენებული, რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაციისათვის საჭირო ოლიგონუკლეოტიდური თანმიმდევრობების შემოწმება ხდებოდა საკონტროლო შტამებზე და მათგან არჩეულ იქნა საუკეთესო თანმიმდევრობები დუპლექს და ტრიპლექს RT-PCR .

2.5. კარტოფილის Y ვირუსის იზილატების მოლეკულური დიფერენცირება

ვირუსული რნმ-ის იდენტიფიკაციისათვის, ასევე ვიყენებდით იმუნოფერმენტული რეაქციის მოდიფიცირებულ მეთოდს, რომელიც შემუშავებულ იქნა Julius Kuhn Institutis ბაზაზე Joerg Schubert-ის მიერ. 0,5 მლ-იან სინჯარებს დახურულ მდგომარეობაში ინახავდნენ 37°C - ზე 4 სთ-ის განმავლობაში, რომელიც შეიცავდა კარტოფილის Y ვირუსის მიმართ სპეციფიკურ იმუნოგლობულინ G-ს (IgG) [70].

ტუბერებში არსებული მასალის სამჯერადი დამუშავება ხდებოდა ფოსფატის ბუფერით (0,01 მოლ ნატრიუმის ფოსფატი, pH 7.2, 0.15NaCl) და 0.05% Tween-20 (PBST) - ით. კარტოფილიდან აღებული მასალის (200 მგ) ჰომოგენიზაცია მიმდინარეობდა საექსტრაქციო ბუფერით (1:10/w:v; PBS შეიცავს: 2% PVP-25 და 2% მშრალ, ცხიმგამოცლილ რძის ფხვნილს). მომდევნო ეტაპზე ხდებოდა ჰომოგენატის ცენტრიფუგირება 12000 x g-ზე, შემდეგ სუპერნატანტის 50 მკლ ემატებოდა ეპენდორფის სინჯარებს და ინახებოდა 4°C-ზე მთელი ღამის განმავლობაში. ეპენდორფის სინჯარების PBST ბუფერით სამჯერ მორეცხვის შემდეგ და ერთხელ გამოხდილი წყლით, ტარდებოდა RT-რეაქცია (რევერსიული ტრანსკრიპტაზის მიერ რნმ-ის მატრიცაზე ერთჯაჭვიანი დნმ-ის სინთეზირება). RT რეაქცია მიმდინარეობდა 40 მკლ მთლიან მოცულობაში. პირველ ეტაპზე RT სარეაქციო პრემიქსი 32 მკლ-ის ოდენობით დაემატა IgG-ს თავსახურიან სინჯარებში, რომელიც ცხელდებოდა 72°C - ზე 2 წთ-ის განმავლობაში. RT პრემიქსი შეიცავს 5 ჯერადად კონცენტრირებულ ბუფერს (Promega), dNTPs – 10 მმოლ, 100 მმოლ 3' და ასევე კარტოფილის Y ვირუსის სპეციფიკურ პრაიმერს PVY3 (ცხრილი 5) . მეორე ეტაპზე პრემიქსის დარჩენილ 8 მკლ-ს დაემატა 0,5 მკლ (200 ერთეული/მლ) RT ფერმენტი (Promega) და ნარევი შეტანილ იქნა თავსახურიან ტუბში. რეაქცია მიმდინარეობდა 60 წთ, 42°C - ზე, საბოლოო ექსტენცია ხდებოდა 72°C - ზე 10 წთ-ის განმავლობაში.

ტრიპლექს PCR-ის საბოლოო მოცულობა მოიცავს 25 მკლ: 3მკლ cDNA (დაახლოებით 300ng, რომელიც გაზომილ იქნა Nano Drop დანადგარით), შტამ-სპეციფიკური PVY^{NA-NTN}, PVY^N და PVY^O-ის antisense და sense ოლიგონუკლეოტიდების პრაიმერები, საბოლოო კონცენტრაცია თითოეულისთვის 0,2 მმოლ 10 ჯერადი კონცენტრირებული სარეაქციო ბუფერი (შეიცავს 1,5 მმოლ MgCl₂, 0,2 მმოლ dNTPs) და 1U Taq დნმ პოლიმერაზა (Promega, Geo Taq).

დუპლექს PCR-თვის ჩვენს მიერ გამოყენებულ იქნა პრაიმერები, რომლებიც სპეციფიკურია PVY^{N-Wilga} -სა და PVY^N შტამებისათვის. თერმოციკლირების პირობები

მსგავსია ორივე Duplplex - სა და triplplex - PCR-თვის: 96°C 3 წთ, 96°C 15 წმ, 62°C 1წთ და 15 წმ, 72°C 2 წთ, 32 ციკლი, საბოლოო ექსტენცია 72°C 10 წთ. სავარაუდო (მოსალოდნელი) ბენდების ანალიზი გაკეთდა 1%-იან აგაროზის გელზე TAE ბუფერში, რომელიც შეიცავს ეთიდიუმ ბრომიდს (EthBr), მათი გამოვლენა ხდება ულტრაიისფერი გამოსხივების თანაობისას, გამოიყენება - INTAS UV system P93DW - სისტემა [161].

2.6. სტატისტიკური ანალიზი

მასალის სტატისტიკური დამუშავებისთვის ვიყენებდით უნივარიაციული ანალიზი. ჯგუფების შესადარებლად ვისარგებლეთ ე.წ. Pearson's chi-square და Fisher's ტესტები. მიღებული მაჩვენებლების მგრძნობელობა, სპეციფიურობა, დადებითი (PVY) და უარყოფითი პროგნოზული მნიშვნელობები დავადგინეთ 95% იანი სიზუსტით. კვლევაში გამოყენებული იყო სტატისტიკური პროგრამა SPSS 9.2 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA). P value <0.05 სტატისტიკურად სარწმუნოდ იქნა მიჩნეული.

2.7. კარტოფილის ჯიშების დახასიათება

ახალქალაქის, ახალციხისა და მარნეულის რაიონებში გავრცელებული ჯიშების გამძლეობის განხილვისათვის მოვამზადეთ დამატებითი ცხრილი, რომელშიც ავსახეთ ამ ჯიშების წარმოშობა, დარაიონების წელი და გამძლეობა ჩვენს მიერ შესწავლილი PVY, PLRV, PVX და PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების მიმართ, როგორიცაა PVY^NWi და PVY^N რეკომბინანტული შტამები. ინფორმაცია

აღებულია, ევროპის კულტივირებული კარტოფილის მონაცემთა ბაზიდან (<http://www.europotato.org>) დეტალური ინფორმაცია იხილეთ დანართი ცხრილი 1.

2.8. სექვენირება

სექვენირება საშუალებას იძლევა სწრაფად და სრულად განისაზღვროს 100 – 500 ნუკლეოტიდური წყვილის შემცველი სეგმენტების ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა, რომლებიც წარმოიქმნებიან დნმ-ის რესტრიქტაზული დახლეჩით.

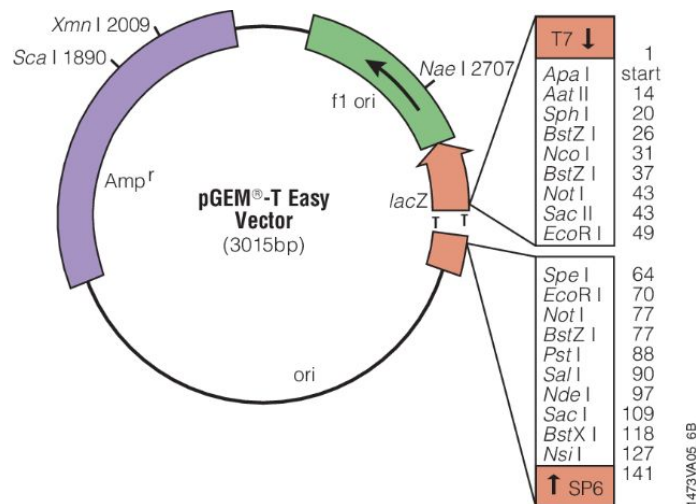
მეთოდი, რომელიც შემუშავებულია სენგერის მიერ და მისივე სახელს ატარებს, დაფუძნებულია არა ქიმიურ, არამედ ფერმენტაციულ მიდგომაზე. სენგერი იყენებდა დნმ-პოლიმერაზა I-ს. უჯრედში ეს ფერმენტი მონაწილეობს რეპლიკაციის პროცესში და ახორციელებს ახალსინთეზირებულ დნმ-ის ფრაგმენტებს (ოკაზაკის ფრაგმენტების) შორის არსებული სივრცის შევსებას. *In vitro* ფერმენტის ფუნქციონირებისათვის აუცილებელია დეზოქსირიბონუკლეოტიდფოსფატები (dNTP) და პრაიმერი.

მოპოვებული შტამების PVY^NWi და PVY^N -ის cDNA- ამპლიფიკაციას ვახდენდით პოლიმერაზა ჯაჭვური რეაქციით RT-PCR. სექვენირება მოგვეხდინა PVY ვირუსის P1, HC-Pro, P3 გენური ფრაგმენტის. მიღებული ამპლიკონების დეფოსფორიზაციისა და გაწმენდისათვის ვიყენებდით სპეციფიურ ნაკრებს (QIAquick PCR Purification Kit; QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN, GmbH, Germany), რათა ვირუსის გენომის ფრაგმენტი გამოგვეყენებინა კლონირებისათვის. ამპლიფიცირებული ფრაგმენტის დამუშავებას ვახდენდით რესტრიქციული ენდონუკლეაზით. როგორც ზემოთ ავღნიშნეთ, ყველა გამოყენებული პრაიმერის 5'- დაბოლოებას წინასწარ გამიზნულად ემატებოდა, კლონირებისათვის შერჩეული პლაზმიდის პოლილინკერის რესტრიქციული ენდონუკლეაზა ECORI-ის საიტი (ATAGCT). რესტრიქციული ენდონუკლეაზა ECORI-ით ამპლიკონის დამუშავების შედეგად მისი საიტის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა, როგორც ადაპტორი, უკავშირდება დნმ-ის ფრაგმენტის ორივე დაბოლოებას. რესტრიქციისათვის

ვიყენებდით 4 μ ლ შესაბამის ბუფერს, 1 μ ლ ფერმენტს (Fast Digest 30Min), 32 μ ლ გამოხდილ წყალს და 3 μ ლ დნმ ფრაგმენტს. პროგრამა მიმდინარეობდა 30 წუთი 37°C და 10 წუთი 70°C. შემდეგ ვახდენდით ადაპტორი საიტებით აღჭურვილი დნმ-ის მომზადებას ლიგირებისათვის, რაც გულისხმობს დნმ-ის ფრაგმენტების დეფოსფორიზაციას არქტიკული ფოსფატაზას მიხედვით. 30 μ ლ დნმ-ს ემატებოდა, 3 μ ლ გამოხდილი წყალი 3.5 μ ლ ბუფერი და 1 μ ლ ფერმენტი არქტიკული ფოსფატაზა [163].

PEGMT ვექტორის სქემატური ილუსტრაცია

სურათი #8



დნმ დამუშავების შესაბამისად მოვახდინეთ PEGMT პლაზმიდის დნმ-ის დამუშავება იგივე რესტრიქციული ენდონუკლეაზა ECORI -ით. დეფოსფორიზაცია-გაწმენდა მიმდინარეობდა ზემოთ აღნიშნული მეთოდოლოგიის მიხედვით. მომზადებული პლაზმიდის პოლილინკერის LacZ საიტთან მოვახდინეთ მომზადებული ვირუსული ფრაგმენტების ლიგირება. ლიგირების რეაქცია

მიმდინარეობდა 2X კონცენტრირებული ბუფერის, 1 μ l ფერმენტი (ლიგაზა) 2-4 μ l 1 μ l დნმ ფრაგმენტი

ლიგირებისა და კლონირების პროცედურების მონიტორინგს ვახდენდით გელ-ელექტროფორეზის საშუალებით. მიღებული რეკომბინანტული პლაზმიდები ტრანსფორმირებული იქნა *E. coli* NEB-turbo cells კომპეტენტურ უჯრედებში. ლიგირების, კლონირების, ტრანსფორმაციის ექსპერიმენტებისათვის გამოყენებულ იქნა მოლეკულური ბიოლოგიის სტანდარტული მეთოდები [74]. მიღებული ტრანსფორმირებული ბაქტერიების შემოწმება ხდებოდა Colony PCR მეთოდის გამოყენებით. ის შტამები, რომლებშიც დადასტურდებოდა ფრაგმენტის არსებობა, ჩვენთვის საინტერესოდ ხდებოდა მათი გაზრდა და დნმ გამოყოფა Machery-nagel kit-ის მეშვეობით. რეკომბინანტული პლაზმიდების სწორად კონსტრუირების დასადასტურებლად ვშიფრავდით რეკომბინანტული პლაზმიდური დნმ-ის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობას.

PVY ვირუსის შტამების იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებული პრაიმერები

ცხრილი #1

სეკვენსი [5'-3']	შტამების მიმართ სპეციფიკური	PCR ფრაგმენტის ზომა (Bp)
TCTCCTGATTG	All Strains	-
GGCTCATCTAACAGCAACT	PVY ^N Wi	778
GTC		
CCGAATGGGACAAGAAAA	PVY ^N Wi	
CTTG		
TTGATAAGATGGTTCATTT	PVY ^{NA-NTN}	434
GTTT		
TTGATCTTCGTCGTACAAA	PVY ^{NA-NTN}	
CCG		
CCACAATGACGAAATCACC	PVY ^{NTN}	890
CTG		
AAGGTAGCATTCAACCAAA	PVY ^{NTN}	
TCTC		
GGTTCATCCAGTAGCAATT	PVY ^N	658
GCT		
CCGAATGGGACAAGAAAA	PVY ^N	
CTTG		
GGCTCATCTAACAGCAACT	PVY ^O	1553
GTC		
AATTGTACGATGCACGTTC	PVY ^O	
TAGA		

რეკომბინანტული პლაზმიდაში კლონირებული ფრაგმენტის ზომიდან გამომდინარე ვახდენდით რეკომბინანტული პლაზმიდის დნმ-ის (primer walking sequencing) ფრაგმენტულ სეკვენირებას. აღნიშნული სეკვენირების დაწყება ხდებოდა pPW19 ვექტორი-პლაზმიდის ერთეული პრაიმერის საშუალებით (sequencing by single primer). საკვლევი დნმ-ის სეკვენირება მიმდინარეობდა ერთდროულად ორივე დაბოლოებიდან: დაღმავალი (Fp- u277; 5'-3') და აღმავალი (Rp- d238; 3'-5') პრაიმერის გამოყენებით, რათა გამოგვევლინა ორივე მიმართულებიდან გაშიფრული თანმიმდევრობების გადაფარვის ზონა. სეკვენირების ერთი საფეხური გულისხმობდა 500-700 ნუკლეოტიდის გაშიფვრას. შესაბამისად, ყოველ შემდეგ საფეხურზე მატრიცული დნმ-ის თანმიმდევრობის მიხედვით ვახდენდით მომდევნო 500-700 ნუკლეოტიდიანი ფრაგმენტისათვის საჭირო პრაიმერის დიზაინს. ეს პროცესი მიმდინარეობდა რამდენიმე საფეხურად, ვიდრე სრულად არ დაიფარებოდა რეკომბინანტული პლაზმიდის სრული გენომი. სეკვენსის ანალიზი მუშავდებოდა კომპიუტერული პროგრამებით: DNA LaerGen ანალიზი გულისხმობდა ემპირიულად მიღებული რეკომბინანტული პლაზმიდის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის ზუსტ შედარებას მატრიცული დნმ-ის (ხელოვნურად კონსტრუირებული რეკომბინანტული პლაზმიდის) ნუკლეოტიდურ თანმიმდევრობასთან. რეკომბინანტული პლაზმიდების ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის სეკვენირებას ვახდენდით CEQ-DTCS Quick starter sequencing kit and a Beckman-Coulter CEQ 8800 sequencer (Beckman-Coulter, Brea, CA, USA) საშუალებით.

3. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

3.1. კარტოფილის ვირუსების აღმოჩენა DAS- ELISA-ს მეთოდით

კვლევის შედეგებმა აჩვენა, რომ საქართველოში კარტოფილის სათესლე მასალის ინფიცირების ხარისხი მნიშვნელოვნად აჭარბებს საერთაშორისო დასაშვებ სტანდარტს. იმუნოფერმენტული რეაქციის მეთოდით, შესწავლილ იქნა საქართველოს სამ ძირითად რეგიონში (ახალქალაქი, ახალციხე და მარნეული) კარტოფილის PVY, PVX, PLRV ვირუსების გავრცელების არეალი. აღმოჩნდა, რომ დომინანტურ შტამებს წარმოადგენს კარტოფილის Y და X ვირუსები, ჩვენს მიერ ვერ მოხერხდა PLRV ვირუსი გამოვლენა (ცხრილი №2;3;4;5.).

PVY-ვირუსის გავრცელება არის გლობალური პრობლემა, ეს შტამი გვხვდება მთელს მსოფლიოში, ევროპაში, ამერიკაში, სამხრეთ ამერიკაში, ავსტრალიაში, ინდოეთში, აფრიკაში და სხვ. PVY ვირუსი გავრცელებულია საქართველოს ყველა რეგიონში. შესწავლილ ნიმუშებში ტოტალური ინფექციის დონე შეადგენდა 63%-ს. ინფიცირების თვალსაზრისით ახალციხის რეგიონი პირველ ადგილზეა სადაც ინფექციის დონემ შეადგინა 78%-ს, შემდეგ კი მარნეული 61%-ით და ახალქალაქი – 50%. ჩვენი DAS-ELISA კვლევის შედეგები ემთხვევა (CIP,2010), კარტოფილის ვირუსების კვლევას საქართველოში. ამ გამოკვლევის საფუძველზე დადგინდა, რომ 12-დან 10-ტუბერი PVY-ვირუსით იყო დაავადებული.

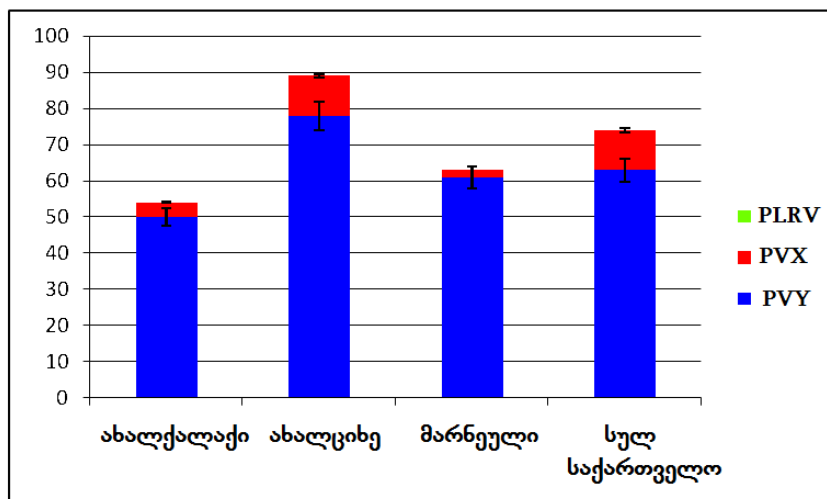
მსოფლიოში, PVY ვირუსის დონე სათესლე კარტოფილში არ უნდა სცდებოდეს 0.5 -1.5 %, იმ შემთხვევაში თუ კარტოფილის სათესლე მასალა დაინფიცირებულია დასაშვებ პროცენტზე მეტად, სათესლე მასალის სერტიფიკატი არ გაიცემა. გარდა ამისა, მოსავლის რეალიზაციაზე შეიძლება კომპანიებმაც უარი განაცხადონ, ვინაიდან ტუბერებზე ხშირად მჟღავნდება დაავადების სიმპტომები. კვლევის შედეგები ცხადყოფს, რომ 2010 წლიდან არ შეცვლილა ქვეყანაში

კარტოფილის ფიტოსანიტარული სიტუაცია, რაც ნაწილობრივ ხსნის დარგის ასეთ მძიმე მდგომარეობას.

PVY ვირუსი ასწებოვნებს სხვადასხვა ოჯახის წარმომადგენლებსაც, როგორიცაა გოგრისებრთა ოჯახი (კიტრი, ნესვი, საზამთრო, გოგრა) და ასევე მაღლყურძენასებრი ოჯახის სხვა წარმომადგენლებს (პომიდორი, წიწაკა, ბადრიჯანი, და სხვა), მიღებული შედეგები იძლევა იმის ვარაუდის საშუალებას, რომ რადგანაც შესწავლილ რეგიონებში მაღალია PVY-ის გავრცელება, შესაძლებელია ამ ვირუსით ინფიცირებული იყოს აღნიშნული სახეობები. ვირუსული დაავადებების ალტერნატიული მიმღები ორგანიზმების არსებობა წარმოადგენს ვირუსის გავრცელების და ეპიდემიის წარმოქმნის ერთ-ერთ მთავარ პირობას მთელს მსოფლიოში[144].

საქართველოს კარტოფილის მწარმოებელი რეგიონებში PVY, PVX და PLRV ვირუსების გავრცელება

ცხრილი #2



საქართველოში მასიურად აწარმოებენ ევროპული წარმოშობის კარტოფილის ჯიშებს, რომლებიც საკმაოდ ძველი ჯიშებია. ჩვენი კვლევის ფარგლებში ვცადეთ დაგვედგინა, თუ რომელი ჯიში უფრო მეტად იყო დაინფიცირებული PVY ვირუსით. სხვადასხვა ჯიშების დაინფიცირების დონის ცოდნა მნიშვნელოვანია, ქართველი ფერმერებისათვის, ვინაიდან ნაკლებად დაინფიცირებული ჯიშების გამოყენება, შეამცირებს მოსავლის დანაკარგს და გაზრდის საბოლოო პროდუქტის საბაზრო ღირებულებას.

ახალქალაქის რაიონში გამოკვლეული კარტოფილის ჯიშების ვირუსებით დაინფიცირების მაჩვენებელი (%-ში)

ცხრილი #3

რეგიონი	ჯიში	კარტოფილის დაავადების გამომწვევი ვირუსები		
		PVY	PVX	PLRV
ახალქალაქი	სპუნტა	78	0	0
	მარაბელა	71	0	0
	მარიანა	33	0	0
	მილვა	0	0	0

როგორც ცხრილი #3-დან ჩანს, რომ ახალქალაქის რაიონში ყველაზე მეტად კარტოფილის ჯიშებს აზიანებს PVY ვირუსი. ამასთან ვირუსებმა ვერ მოახდინეს მილვას ჯიშის კარტოფილის ნათესების დაზიანება. აღსანიშნავია, რომ ეს ჯიში ძალზე მდგრადია ნემატოდების და კარტოფილის კიბოს მიმართ. ჩვენი კვლევების მიხედვით ის ამჟღავნებს რეზისტენტობას PVY-ის მიმართაც, თუმცა სტატისტიკური ძალის მოსაპოვებლად ამ მიმართულებით, საჭიროა სამომავლო კვლევები.

ახალციხის რაიონში კარტოფილის დაავადების გამომწვევი ვირუსების დაზიანების მხრივ შევისწავლეთ შემდეგი ჯიშები: რედიში, პიკასო, დესირე და მარფონა.

ახალციხის რაიონში გამოკვლეული კარტოფილის ჯიშების ვირუსებით დაინფიცირების მაჩვენებელი (%-ში)

ცხრილი #4

რეგიონი	ჯიში	კარტოფილის დაავადების გამომწვევი ვირუსები		
		PVY	PVX	PLRV
ახალციხე	რედიში	71	0	0
	პიკასო	75	1	0
	დესირე	33	2	0
	მარფონა	95	8	0

როგორც ცხრილი #4-დან ჩანს, კარტოფილის ჯიშებს ძირითადად აზიანებს PVY ვირუსი. გარკვეულ მდგრადობას ამჟღავნებს ჯიში დესირე, ხოლო მარფონას ჯიშის ნათესებს ვირუსი ტოტალურად აზიანებს.

ცდების მომდევნო სერიაში, კარტოფილის დაავადების აღმძვრელი ვირუსების დაზიანების გავრცელების სიხშირე შევისწავლეთ მარნეულის რაიონში.

მარნეულის რაიონში გამოკვლეული კარტოფილის ჯიშების ვირუსებით
დაინფიცირების მაჩვენებელი (%-ში)

ცხრილი #5

რეგიონი	ჯიში	კარტოფილის დაავადების გამომწვევი ვირუსები		
		PVY	PVX	PLRV
მარნეული	ჯელი	50	0	0
	რედიშ-ჰორს	65	2	0

როგორც ცხრილი #5-დან ჩანს, კარტოფილის ჯიშების - ჯელის და რედიშ-ჰორსის ნათესების ნახევარს აზიანებს, PVY ვირუსი.

საქართველოში PVX ვირუსის გავრცელების საფრთხე, PVY ვირუსთან შედარებით მცირეა. შესწავლილი 120 ტუბერიდან ტოტალური ინფექცია PVX ვირუსით გამოვლინდა 13%. ინფექციის მაღალი დონეა ახალქალაქის რაიონში - 11% და მარნეულის რეგიონში 2%. კვლევის ფარგლებში ახალქალაქის რეგიონში ვერ მოხერხდა დაავადების აღმოჩენა. კარტოფილის ჯიშებიდან ყველაზე მეტად დაზიანებული აღმოჩნდა Marfona-ს ჯიში.

PVX-ვირუსის სიმპტომები არის ცვალებადი და დამოკიდებულია სხვადასხვა ფაქტორებზე. მოსავლიანობის შემცირება შეიძლება იყოს 50%-ზე მეტი. PVX ვირუსი ვრცელდება მექანიკურად და მისი გავრცელება თითქმის მთელს მსოფლიოში შემცირებულია, მაგალითისათვის გერმანიაში ამ ვირუსის გავრცელება თითქმის აღკვეთილია. PVX ვირუსი, ისე როგორც PVY ვირუსს აინფიცირებს სხვადასხვა ოჯახის წარმომადგენლებს როგორიცაა: გოგრისებრთა და ძაღლყურძენასებრი ოჯახის წარმომადგენლები.

PVX ვირუსის გავრცელება სახიფათოა, ვინაიდან მას გააჩნია დიდი მუტაციის და რეკომბინაციის უნარი, რაც საშუალებას ქმნის რომ მუდმივად წარმოიქმნას ახალი რეკომბინანტული შტამები, რომელნიც იძლევიან სხვადასხვა სახის ჰიპერმგრძნობელობით რეზისტენტობას მცენარეებში და მათი სიმპტომების აღმოჩენა ლაბორატორიული ანალიზის გარეშე თითქმის შეუძლებელია. საბედნიეროდ, ჩვენს მიერ აღმოჩენილი შტამები, ამჟღავნებდა დამახასიათებელ სიმპტომატიკას, თამბაქოზეც, რაც გვაძლევს საშუალებას ვივრუდოთ, რომ იმ შემთხვევაში თუ მოხდება ფერმერთა ცნობიერების ამაღლება ამ ვირუსთან დაკავშირებით, მისი ელიმინაცია ვიზუალური ინსპექციის დროს გახდება შესაძლებელი [155].

შერეული ინფექცია წარმოადგენს ერთ ერთ მნიშვნელოვან პრობლემას კარტოფილის წარმოებაში. როდესაც მცენარე დაინფიცირებულია ორი სხვადასხვა ვირუსით, დავადების სიმპტომის გარჩევა თითქმის შეუძლებელი ხდება. ამასთან ერთად, მცენარე განიცდის ორმაგ სტრესს და მოსავლიანობა შეიძლება 100% შემცირდეს. ჩვენი კვლევის ფარგლებში კარტოფილის შერეული ინფექციით ინფიცირების ტოტალურმა დონემ შეადგინა 8%. შერეული ინფექცია აღმოჩენილ იქნა ახალციხის რეგიონში სადაც ჯიში მარფონა 95%-ით იყო დაინფიცირებული PVY ვირუსით და ასევე 11% დაინფიცირებული იყო PVX ვირუსით.

PLRV-ვირუსი ფართოდ გვხვდება ძალუყურძენასებრთა კულტურებში. კარტოფილში ეს ვირუსი ერთ-ერთი ყველაზე დიდი ზიანის მომტანია. ვირუსის გადამტანი არის ატმის მწვანე ბუგრი (*Mysus persica*), რომელიც საქართველოში ხშირად გვხვდება. აღსანიშნავია, რომ ჩვენი კვლევებით არ დადასტურდა მარნეულის, ახალციხისა და ახალქალაქის რაიონებში ამ ვირუსის არსებობა, აღსანიშნავია, რომ ჩვენს მიერ გამოკვლეული კარტოფილის რაოდენობა არ იძლევა საშუალებას განვაზოგადოდ დასკვნა მთელ საქართველოზე. სამომავლოდ საჭიროა,

უფრო დიდი რაოდენობის ნიმუშების შესწავლა, რათა პასუხი გაეცეს PLRV ვირუსის გავრცელებას ქვეყანაში [138].

საინტერესო აღმოჩნდა მარნეულის, ახალციხის და ახალქალაქის რაიონების შედარება ვირუსების გავრცელების სიხშირის მიხედვით, რომელიც გაანალიზებულ იქნა Chi-Square (χ^2) სტატისტიკური ანალიზით (ცხრილი 2). კვლევის შედეგად აღმოჩნდა, რომ ახალქალაქის რეგიონში მნიშვნელოვნად დაბალია ვირუსების გავრცელების არეალი (df-2, Number - 6,649, $P>0.01$) რაც ხაზს უსვამს, აღნიშნული რეგიონის უპირატესობას სათესლე კარტოფილის საწარმოებლად.

რეგიონების დაინფიცირების დონის შედარება. chi-squared (χ^2) სტატისტიკური ანალიზით

ცხრილი #6

		df	სიდიდე	P სიდიდე
რეგიონები	vs	2	6,649	0,0036
PVY და PVX				
ახალქალაქი	vs ახალციხე	1	7,569	0,0039
ახალციხე	vs მარნეული	1	0,0488	0,8252
ახალქალაქი	vs მარნეული	1	6,454	0,0111

კარტოფილის წარმოების I ზონას მიეკუთვნება ახალციხე, რომელიც მდებარეობს ზღვის დონიდან 800-1000 მეტრზე. II ზონას მიეკუთვნება მარნეული, რომელიც მდებარეობს ზღვის დონიდან 400 მეტრზე. ხოლო მეკარტოფილეობის III რეგიონს მიეკუთვნება ახალქალაქი, რომელის მდებარეობაა ზღვის დონიდან 1400-2000 მეტრი. Chi-squared test (χ^2) ის შედეგად აღმოჩნდა რომ ახალქალაქის რეგიონში მნიშვნელოვნად დაბალია ვირუსების გავრცელების ტოტალური მაჩვენებელი

$CI > 0.01$. საქართველოს რეგიონებს შორის ვირუსების გავრცელების სხვადასხვა მაჩვენებელი ეთანხმება ვირუსოლოგიაში მიღებულ აზრს, რომ გრილი კლიმატის პირობებში, სადაც ვირუსული დაავადების გადამტანი ვექტორების რაოდენობა დაბალია ვირუსების გავრცელება შეზღუდულია. სტატისტიკურად ვირუსული დაავადებების გავრცელება არ განსხვავდებოდა მარნეულსა და ახალციხეს შორის $CI < 0,1$. რაც შეიძლება ახსნილი იყოს იმ გარემოებით, რომ ამ საწარმოო ზონებებში არ არის ისეთ ნეგატიურ გარემო ვირუსის ვექტორებზე, როგორც ეს ხდება ახალქალაქის რეგიონში.

სათესლე კარტოფილის საწარმოო რეგიონების შერჩევა მნიშვნელოვან როლს ასრულებს, უვირუსო სათესლე კარტოფილის წარმოებასა და სერტიფიცირებაში. ამერიკის 50 შტატიდან მხოლოდ 15 შტატშია ნებადართული სათესლე კარტოფილის წარმოება. ეს ადგილები შერჩეულია იქ არსებული ცივი ზამთრის გამო, რაც ნეგატიურ გავლენას ახდენს კარტოფილის დაავადების ვექტორებზე [17]. ასეთივე სიტუაციაა გერმანიაში, სადაც არჩეული ტერიტორია (Mcklenburg) უვირუსო სათესლე მასალის საწარმოოდ. დიდ ბრიტანეთში სათესლე კარტოფილის წარმოება უმეტესად შოტლანდიაში ხდება, ვინაიდან იქ არსებული კლიმატური პირობები არახელსაყრელია ვექტორების მიმართ. მიღებული შედეგები კიდევ ერთხელ ადასტურებს, რომ აუცილებელია საქართველოს მეკარტოფილეობის რეგიონების დეტალური შესწავლა და სათესლე მასალის წარმოება შესაბამისი გარემო ფაქტორების გათვალისწინებით [27].

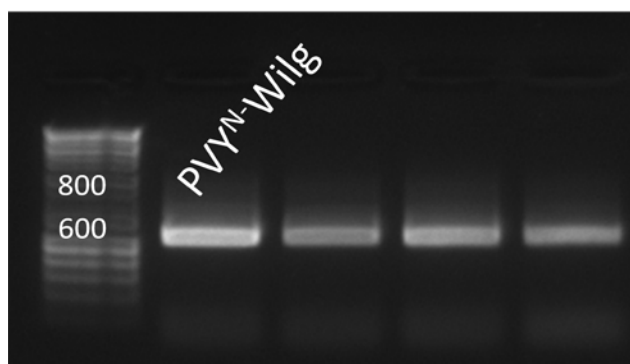
3.2. PVY რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია RT-

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით

მოლეკულურ ბიოლოგიური ტექნოლოგიების განვითარებამ დასაბამი მისცა PVY ვირუსების რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაციას. სადღეისოდ, თითქმის შეუძლებელია DAS-ELISA ტექნოლოგიით PVY რეკომბინანტული შტამების დეტექცია და გარჩევა. ცდების მომდევნო სერიაში, PVY ვირუსით დაავადებული კარტოფილის 120 ტუბერებიდან გამოყოფილ იქნა რნმ და ფერმენტ რევერტაზას და პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით PCR შესწავლილ იქნა PVY ვირუსების რეკომბინანტული შტამების PVY^NWi, PVY^{NTN}, PVY^N, PVY^{NA-NTN}, PVY^O გავრცელება საქართველოს მეკარტოფილეობის რეგიონებში.

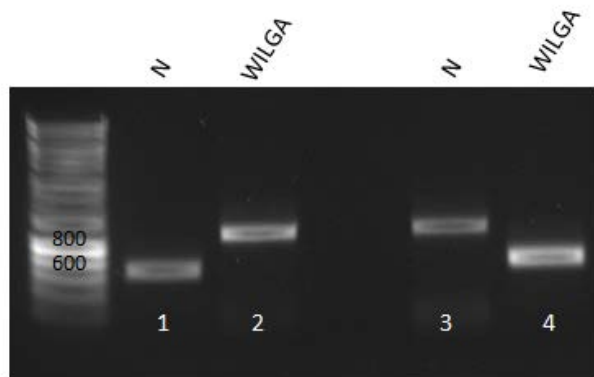
PCR პროდუქტის ამპლიფიკაციით მიღებული პროდუქტის გელ ელექტროფორეზის სურათი: ხაზი 1-4- PVY^N-Wilg სავარაუდო ბენდების ზომა 758 BP

სურათი #9



აგაროზის გელი PCR პროდუქტის ამპლიფიკაციით: ხაზი 1-3- PVY^N სავარაუდო ბენდების ზომა 658BP, Lanes 2-4, PVY^{N-Wilga} სავარაუდო ბენდების ზომა 758bp

სურათი #10



კვლევის ფარგლებში DAS-ELISA კვლევის შედეგები დაემთხვა RT-PCR კვლევის შედეგებს და ტოტალური PVY ვირუსით დაინფიცირების დონემ შეადგინა 63%. როდესაც მოხდა შტამებს შორის დიფერენცირება, აღმოჩნდა რომ საქართველოში გავრცელებული PVY^{NWi} ტოტალური ინფექციის დონე წარმოადგენს - 56% -ს. ხოლო PVY^N - რეკომბინანტული შტამის კი 7%. აღსანიშნავია, რომ PVY^{NWi} შტამი გავრცელებულია საქართველოს მეკარტოფილეობის სამივე რეგიონში.

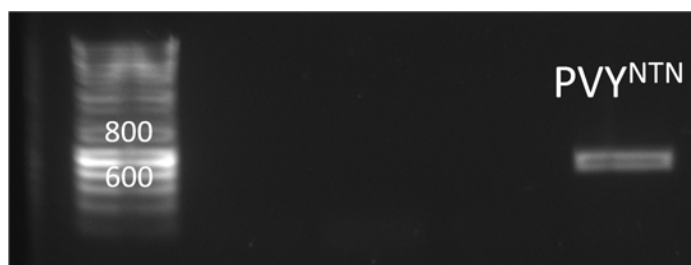
2012 წელს პოლონეთში ჩატარებული კვლევის შედეგად დადგინდა რომ თითქმის კარტოფლის 90% დაინფიცირებული იყო PVY^{NWi} შტამით [139]. საქართველოში PVY^{NWi} გავრცელება წარმოადგენს დიდ საშიშროებას, ვინაიდან როგორც უკვე აღინიშნა ვირუსს გააჩნია დაავადების უსიმპტომო განვითარება. კარტოფილის სხვადასხვა ჯიშებზე. ამასთან, ერთად მათი აღმოჩენა სერტიფიკაციის სისტემაში ხშირად ვერ ხერხდება ELISA ტესტების გამოყენებით, ვინაიდან, ანალიზის დროს გამოიყენება MAB ანტისხეულები, რომელიც არის PVY⁰ ვირუსის

სპეციფიკური და ხშირად ის ვერ უკავშირდება PVY^NWi შტამს და ვერ ხერხდება მისი იდენტიფიკაცია.

კარტოფილის რეკომბინანტული შტამის PVY^N შესწავლით დადგინდა, რომ ის გავრცელებულია საქართველოს ახალქალაქის რეგიონში 7%. აღნიშნული შტამი ფართოდ არის გავრცელებული ევროპაში და ასევე აღმოჩენილია აშშ-ს და კანადის ტერიტორიებზე. სადღეისოდ PVY^N შტამი ითვლება საკარანტინო პათოგენად ამერიკაში და იმ შემთხვევაში თუ სათესლე მასალა დაინფიცირებულია ამ ვირუსული შტამით, მისი იმპორტი და ექსპორტი აკრძალულია [81]. კვლევის ფარგლებში ვერ მოხერხდა PVY ვირუსის სხვა რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია, როგორცაა PVY^{NTN}, PVY^{NA-NT}, PVY^o (სურ 11).

PCR პროდუქტის ამპლიფიკაციით: ხაზი 1-2- PVY^{NTN}, 3-4 PVY^o სავარაუდო ბენდების ზომა PVY^{NTN} 890 BP. ხოლო PVY^o 1558 BP. პოზიტივ კონტროლად მოცემულია PVY ვირუსის შტამი.

სურათი #11



PVY ვირუსის მუდმივად განიცდის რეკომბინაციას და მუდმივად ხდება ამ შტამის ადაპტაცია ახალ და შეცვლილ გარემო პირობებთან. სადღეისოდ, PVY ვირუსი და მისი რეკომბინანტები წარმოადგენენ საფრთხეს მთელს მსოფლიოში და მათი იდენტიფიკაციისათვის უკვე ფართოდ გამოიყენება RT-PCR მეთოდი, რათა მოხდეს 100% სიზუსტით ვირუსის რეკომბინანტული შტამების დეტექცია.

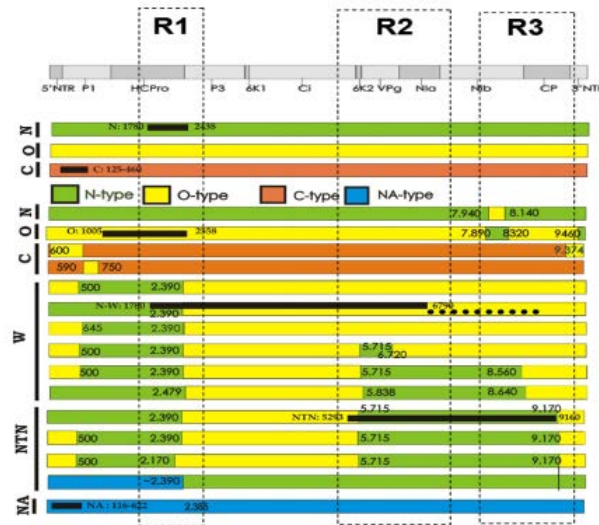
ჰოლანდიის NAK ცენტრალური სასერტიფიკაციო სისტემაში, უკვე ფართოდ გამოიყენება 50 ტუბერიდან აღებული გაერთიანებული ნიმუშის RT-PCR მეთოდით დამუშავება. ვინაიდან, ამ მეთოდს გააჩნია მაღალი მგრძნობელობა და მისი გამოყენებით შესაძლებელია PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაციისათვის [141].

3.3. საქართველოს რეგიონებში გავრცელებული კარტოფილის ვირუსების გენომის სეკვენირება

გენომიკა, რომელიც გენეტიკის თანამედროვე მიმდინარეობას წარმოადგენს, რეკომბინანტული დნმ-ტექნოლოგიის, დნმ-სეკვენირებისა და ბიოინფორმატიკის გამოყენებით ცოცხალი ორგანიზმების გენომების გაშიფრვა-წაკითხვის, ანალიზის საშუალებას იძლევა. გენომიკის ფუნდამენტურ მიდგომას წარმოადგენს დნმ-სეკვენირება, რომელიც დნმ-ის მოლეკულის პირველადი ქიმიური სტრუქტურის ანუ სრული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების დადგენას გულისხმობს [159]. კარტოფილის ვირუსების კვლევაში ფართოდ დაინერგა სეკვენირების მეთოდი, ვინაიდან ის საშუალებას იძლევა შტამების 100 % აღმოჩენის და ამასთანავე, რეკომბინანტური ანალიზით შესაძლებელია განისაზღვროს თუ სად ხდება იზოლატებს შორის ცვლილება და რეკომბინაცია [112]. სურ. #9 - ზე ნაჩვენებია PVY-ის გამოვლენილი შტამების მოლეკულური მახასიათებლები სადაც გამოყოფილია რეკომბინანტული უბნები, სადაც ძირითადად ხდება რეკომბინაციები (რეკომბინანტული გადაბმები R1, R2 და R3) PVY-ის O, N, C, NA შტამებს შორის.

BLAST ანალიზის შედეგი

სურათი #9



PVY ვირუსი R1 გენომის სეკვენირება, წარმოადგენს ვირუსული შტამის რეკომბინანტული გადაბმების მიზნობრივი უბანს. სადღეისოდ რეკომბინანტული შტამების დეტექციისათვის R1 უბნს სეკვენირება არის მსოფლიოში აპრობირებულ მეთოდი. ჩვენმა კვლევამ გამოავლინა შესამჩნევი განსხვავება N და Wilga იზოლატებს შორის, როგორც წინასწარ იქნა ნაჩვენები, რომ მათი გენომი ნაწარმოებია მრავალჯერადი რეკომბინაციებით O და N საწყის იზოლატებს შორის.

ჩვენი კვლევის ფარგლებში, იმისათვის რომ მოგვეხდინა აღმოჩენილი რეკომბინანტული შტამის 100% სიზუსტით დეტექცია, მოვახდინეთ ახალციხეში აღმოჩენილი PVY^NWi და PVY^N შტამის იდენტიფიკაციისათვის საჭირო R1 უბნის სეკვენირება, ასევე P1, HC-PRO, P3 გენების სეკვენირება, რაც მოიცავს 0-3001 ნუკლეოტიდამდე უბანს. საქართველოში აღმოჩენილი კარტოფილის რეკომბინანტული შტამის PVY^NWi და PVY^N სეკვენსის ანალიზი განხორციელდა Lasergen პროგრამით.

PVY^NWi შტამის გენომ ცხრილი #7.

```

1  aattaaaaca actcaataca acataagaaa aacaacgcaa aaacactcat aaacgctcat
61  tctcactcaa gcaacttgct aagtttcagt ttaaattatt tccttgcaat tctcttaaac
121 aatcttggaa accatttcaa ctcaacaagc aatttcatca ctttcaacca atttcagatc
181 ctcaatggca acttacatgt caacaatctg tttcggttcg tttgaatgca agctaccata
241 ctcacccgcc tcttgcgggt atatcgtgaa ggagcgagaa gcgctggctc ccgttgatcc
301 -----
361 -----
421 cattcagaag aaactggaga ggaaggatag ggaagaatat aacttccaaa tggccgctcc
481 tagtattgtg tcaaaaatta caatagctgg tggagatcct ccatcaaagt ctgagtcaca
541 -----cacgtcccat
601 aataaagttg acagaaggcc agatgaatca tctcattaag caggtaaagc agattatgtc
661 ggagaagaga gggctctgtcc acttaattag taagaagacc actcatgttc aatataagga
721 gatacttggg gcaactcgcg cagcgggttcg aactgcacat atgatgggtt tgcgacggag
781 agtggacttc cgatgtgata tgtggacagt tggacttttg caacgtctcg ctcgacggga
841 caaatgggtc aatcaagtcc gcactatcaa catabgaagg ggtgatagtg gagtcattct
901 gaacacaaaa agcctcaaag gccacttttg tagaagttca ggagacttgt tcatagtgcg
961 tggttcacac gaggggaaat tgtacgatgc acgttctaga gttacacaga gtgttttgaa
1021 ctcaatgatc cagttttcga atgctgatag tttttggaag ggtctagacg gtaattgggc
1081 acgactgaga tacccttcgg atcacacatg tgtagctggg ttacctgtcg aggattgtgg
1141 tagggttgct gcattgatga cacacagtat cctcccgtgc tacgagataa cctgccccac
1201 ctgtgtctca cagtacgcca gcttgccggg tagcgatctg ttttaagctgt tgcataaaca
1261 tgcgagagat ggtttgaatc gattgggagc ggataaagac cgatttacac acgttaataa
1321 gttcttgata gcgttggagc atctaactga accagtggat ttgaatcttg agcttttcaa
1381 tgagatatct aaatccatag gggagaagca gcaagcacca ttcaagaatt taaatgtctt
1441 aaataatttc ttcttgaaag gaaaagaaaa tacagctcat gaatggcagg tggctcaatt
1501 gagtttgctc gaattagcaa ggttcagaa gaatagaact gataacatca agaaagggtg
1561 tatatctttc ttcagaaata aattatctgc caaggcaaac tggaatctgt atttgtcgtg
1621 cgacaaccag ttggataaaa atgcaaattt tctgtgggga cagagggaat atcatgctaa
1681 gcggtttttc tcaaacttct ttgaggaaat tgatccagca aagggatact cagcatacga
1741 aacccgcaag catccaaatg gaacaaggaa gctctcaatt ggtagcttag ttgtcccact
1801 -----
1861 -----
1921 -----
1981 aggcaatagt ggtgacaaaa aatttgttga tttacaaaaa ggggattcgg agatgctgta
2041 cattgccaag cagggttatt gttatattaa cgtgtttctt gcaatgctga ttaacattag

```

2101 cgaggaggat gcaaaggatt tcacaaagag agttcgcgac atgtgtgtgc caaagcttgg
 2161 aacatggcca actatgatgg atttggcgac cacttgtgct caaatgagaa tattctatcc
 2221 tgacgttcat gatgcagaac tgcctagaat attggtcgac catgacactc aaacgtgtca
 2281 tgtggttgac tcatttggct cacaaacaac tggatatcat attctaaaag catccagcgt
 2341 atctcaactt atcttgtttg caaatgatga attagaatct gatataaaac attatagagt
 2401 tgggtggtgtt cctaattgcat gccctgaact tgggtccaca atatcacctt tcagagaagg
 2461 aggagttgta atgtctgagt caacagcgct gaaactgctt ttaaagggaa tttttagacc
 2521 taaggtgatg agacagttgc tgttagatga accttacctg ttgattctat caatattatc
 2581 tcctggcata ctgatggcta tgtataacaa tgggattttt gaacttgcgg tgaggttgtg
 2641 gattaatgag aaacaatcca tagctatgat agcatcgcta ctatctgctt tagccctacg
 2701 agtgtcagca gcagaaacac tcgtcgcaca gaagattatc attgatgctg cagctacaga
 2761 cctccttgat gctacgtgtg atgggttcaa cctacatcta acgtacccta ctgcattgat
 2821 gatattgcaa gttgttaaga atagaaatga atgtgatgat accctattca gggcggtttt
 2881 ttcaagttac aacacgagcg tcgtacagat tatggaaaaa aattatctaa atctcttggg
 2941 cgatgcttgg aaagatttaa cttggcggga aaaattatcc gcaacatggg actcatacag

PVY^N შტამის გენომის სეკვენსი

ცხრილი #8.

1 aattaaaaca actcaataca acataagaaa atcaacgcaa aaacactcac aaaagctttc
 61 aattctaact caagcaattt gtttaagttt aactttgatc tccgtcgtac aaaccgtttc
 121 aacttcagtg taagttctcg taactcaata gtttatttca aactctctca aatagtaaca
 181 taccagccat ggcaacttac atgtcaacga ttcaattcgg ttccattgaa tgcaaacttc
 241 catactcacc cgcccctttt gagctagttg cgagggaacg aaaagtttca accatcactg
 301 accccttcgc aggtttggag atgcagctta gtgcgcgact acgaaggcaa gagtttgcga
 361 ctgtccgtac atccaagagt ggtacctgca tgtatcgata caagactgat gtccagattg
 421 cgcacatccg aaagaagcgc gaggaagag aaagagaaga acacaacttc caaatggctg
 481 caccgagtgt tgtgtcgaag attactattg ctgggtggaga gccaccttcg aaacttgaat
 541 cacaagtgca gaggggtgtc atccacacaa ctccaagaat gcgtacagtg aaaacatatc
 601 -----
 661 -----
 721 -----

781 agagagtaga ctttcagtgt gataagtgga ctgttatgtg tctgaagcat ctcgcaagga
841 cggacaagtg gactaaccaa gttcgtgcta ctgatctacg aaagggcgat agtggagtta
901 tattgagtaa tactaatctc aaaggatact ttgggagaaa ttcggagggc ctatttatag
961 tgcgtggatc gcatgaagga aaaatctatg atgcacgttc caaggttact caaggagttc
1021 tatactcaat ggttcagttc tcaagcgctg aaagcttctg gaagggattg gacggcaatt
1081 gggcacggat gagataccct acagatcata catgcgtagc aggcttacca gttgaagact
1141 gtggcagagt agcagcaata atgacacaca gtattctacc gtgctataag ataacctgcc
1201 ccacctgtgc tcaacagtat gccaaacttg cagccagtga ttgtctcaaa gtattacaca
1261 ggcacgcaag tgatggttta agtcgattgg gagcggataa agaccgcttt gtgcatgtca
1321 gcaagttctt gacagtctta gagcacttga ctgaaccagt tgatctaaat ctagaaatct
1381 tcaatgaagt gttcaagtct ataggagaga agcaacaatc acctttcaaa aacctaaata
1441 ttctgaataa tttctttttg aaaggaaagg agaatacagc tcgtgaatgg caagtggctc
1501 aattaagctt acttgaattg gcaagattcc aaaagaacag gacggataat atcaagaaag
1561 gtgacatttc gttcttcagg aataagctat ccgccaaagc aaattggaac ttgtatctgt
1621 catgcgataa tcagttggat aagaacgcaa acttcctgtg gggacagagg gaatatcatg
1681 ccaagcgggt tttctcgaac tttttcgagg aaattgatcc agcgaagggc tactcagcgt
1741 acgaaactcg ttgcatccg aatgggagga gaaaacttgc aattggaaac ctaattgttc
1801 cactcgatct ggctgagttt aggcggaaga tgaaagggtg ttataaaaga cagccagggg
1861 tgagtaagaa gtgcacgagc tcgaaggatg gaaactacgt gtatccctgt tgttgacta
1921 cactcgatga tggctcagct gttgaatcaa cattttacc gccaaactaaa aagcatcttg
1981 taataggtaa cagcgggtgat caaaagtatg ttgatctacc aaaagggaat tctgaaatgt
2041 tatacattgc caggcaaggg ttttgttata ttaatataat ccttgcgatg ttgattaaca
2101 ttagtgagga agatgcaaag gatttcacga agaagggttcg tgacatgtgt gtgccaaagc
2161 ttggaacctg gccaacctg atggatctgg ctactacttg tgctcaattg aaaatattct
2221 accctgatgt tcatgatgca gagctgccca gaatactagt tgaccatgaa actcagacat
2281 gccatgtggt cgactcgttt ggttcgcaaa caactggtta tcatatttta aaggcatcta
2341 gcgtgtctca gcttatcttg tttgcaaacg atgagttgga atctgacatt aagcactata
2401 gagttggtgg tattcctggg gcatgtcctg agctcggatc cacgatttca ctttcagag
2461 aaggaggaat cataatgtct gagtcagcag cactgaaact gcttttaaag ggtatcttta
2521 gaccaaggt gatgaaacag ttactattgg atgaaccata tctgctcatt ctttcgatat
2581 tgtcccctgg catactcatg gctatgtaca ataatgggat ttttgagctt gcagtcaagt
2641 tgtggattaa tgaaaagcaa tctgtagcca tgatagcatc gttattgtcc gccttagctt
2701 tacgagtgtc agcagcagaa acactcgttg cacagaggat tataattgac acggcagcaa
2761 cagatcttct cgatgctacg tgtgatggat tcaatttaaa tctgacatat cccactgcac
2821 tcatggtgtt gcaagttgtt aagaacagaa atgaatgtga tgatacgttg ttttaaggcag
2881 gtttttcaca ttacaatatg agtgtcgtgc agattatgga aaaaaattat ctaagcctct
2941 tgggcgatgc atggaaagat ttaacctggc gagaaaaatt atccgcaaca tggcactcat
3001 acaaagcaaa gcgctctatc actcagttca taaaacccat aggcaaagca gattttaaag

კვლევის შედეგად მოპოვებული PVY^NWi და PVY^N შტამის გენომური თანმიმდევრობა მოცემულია ცხრილი #7-ში და ცხრილი #8-ში როდესაც R1 უბნის BLAST ანალიზი მოვახდინეთ NCBI ვებ გვერდზე, აღმოჩნდა რომ საქართველოში აღმოჩენილი ვირუსული PVY^NWi შტამი 99% სიზუსტით ემთხვევა, პოლონეთში აღმოჩენილ შტამს რომლის ნომერიცაა EF558545.1. აღნიშნული შტამი პირველად აღწერილია Kosakowski J მიერ 2007 წელს და მისი მთლიანი გენომის სეკვენსი ატვირთულია NCBI გვერდზე (ცხრილი №10).

როდესაც შევისწავლეთ PVY^N ვირუსული შტამის გენომი NCBI საინფორმაციო ბაზაში BLAST ანალიზით, აღმოჩნდა რომ საქართველოს ახალქალაქის რეგიონში აღმოჩენილი PVY^N შტამი რომელიც იდენტიფიცირებული იყო PVY^N სპეციფიკური პრაიმერებით, იდენტური აღმოჩნდა იმ ვირუსული შტამების, რომელიც აღწერილია EU-PVY^N შტამების ნუსხაში. აღნიშნულ შტამს NCBI მინიჭებული აქვს კოდი EF558545.1 (ცხრილი №11).

PVY^NWi შტამის BLAST ანალიზი

ცხრილი #10

PVY ^N Wi – Blast Analyses. R1-Region	Query Cover	Accession
Potato virus Y strain (N)W isolate Wilga, complete genome	99%	EF558545.1
Potato virus Y isolate CO2140, complete genome	98%	HQ912914.1

ჩვენმა კვლევამ დაადასტურა, რომ საქართველო აღმოჩენილი PVY^NWi და PVY^N შტამები, რომელთა სკრინინგი მოხდა PVY ვირუსის სპეციფიკური

პრაიმერებით ნამდვილად გააჩნიათ სპეციფიკურობა PVY^NWi და PVY^N შტამის მიმართ. კვლევის ფარგლებში ვერ ხერხდება, საქართველოში გავრცელებული შტამების ფილოგენეტიკური ხის აგება.

PVY^N შტამის BLAST ანალიზი

ცხრილი #11

PVY ^N – Blast Analyses. R1-Region	Query Cover	Accession
Potato virus Y strain N isolate N-Jg, complete genome	100%	EF558545.1
Potato virus Y gene. Polyprotein	98%	HQ912914.1

ვინაიდან, ჩვენ მხოლოდ შევძელით დაგვესეკვენირებინა ერთი ნიმუში. აღნიშნულმა, კვლევამ საშუალება მოგვცა საქართველოში, დაგვედგინა და გადაგვემოწმებინა RT-PCR ით მიღებული შედეგები კარტოფლის რეკომბინანტული ვირუსების გავრცელებასთან. სამომავლოდ აუცილებელია საქართველოში გავრცელებული შტამების შესწავლა და იზოლატებს შორის შედარება რათა მოხდეს ფილოგენეტიკური დასკვნების გაკეთება.

პროგრამით.

დადგინდა, რომ საქართველოში გავრცელებული შტამები თითქმის 98-99% სიზუსტით ემხვევა ევროპაში აღწერილ შტამებს. იმისათვის რომ ქვეყანაში გაკონტროლდეს სათესლე მასალის დასნეობვების ხარისხი, აუცილებელია

საქართველოში გავრცელებული ვირუსების გენომის შესწავლის შესაბამისად, დაინერგოს მულტიპლექსური დეტექციის სისტემა RT-PCR.

3.4. კარტოფილის ვირუსების იდენტიფიკაცია დუპლექს RT-PCR მეთოდით

ვირუსის დეტექციის სისტემის განვითარება წარმოადგენს პრიორიტეტს ვირუსულ დაავადებებთან ბრძოლის მიმართულებით. როდესაც მოხდება ვირუსული დაავადების მაღალი სიზუსტით აღმოჩენა, მხოლოდ ამის შემდგომ შეიძლება დაიგეგმოს ვირუსის კონტროლისათვის საჭირო პრევენციული ზომები და ამასთან ერთად მოიძებნოს და გამოიცადოს ვირუსული შტამის მიმართ რეზისტენტული ჯიშები.

ბოლო წლების განმავლობაში თანამედროვე მეთოდების გამოყენებით, უკვე შესაძლებელი გახდა ვირუსული დაავადებების მულტიპლექსური სისტემით იდენტიფიკაცია. რაც საშუალებას იძლევა ერთი PCR რეაქციაში მოხდეს რამოდენიმე რეაქციის გაერთიანება (სხვადასხვა რეკომბინანტული შტამების დეტექცია ერთდროულად). აღნიშნული მეთოდები ფართოდ გამოიყენება ბოსტნეულ კულტურების სასერტიფიკაციო სისტემებში და აღსანიშნავია, რომ ჰოლანდიის კარტოფილის სასერტიფიკაციო სისტემა მთლიანად გადასულია ამ მეთოდების გამოყენებაზე. გენეტიკური მრავალფეროვნება, რომელიც დამახასიათებელია დადებითი რნმ-შემცველი მცენარეთა ვირუსებისთვის განისაზღვრება ორი ძირითადი ფაქტორით: მუტაცია და რეკომბინაცია [166,167]. ჰიპოთეტურად ორივე იძლევა ვრცელ არეალს ვირუსული გენომის ადაპტაციისათვის ახალ ევოლუციურ ნიშაში, რაც აუცილებელს ხდის რომ მუდმივად მიმდინარეობდეს დაავადების დეტექციის სისტემების შემუშავება და დახვეწა.

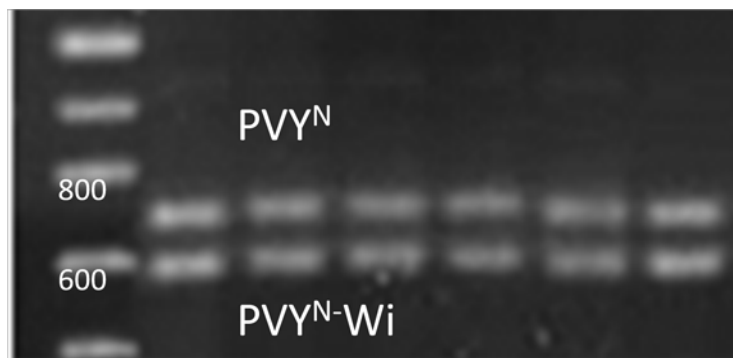
PVY არის საუკეთესო მაგალითი რნმ შემცველი ვირუსის, რომელსაც აქვს მაღალი მუტაციური კოეფიციენტი და მრავალრიცხოვანი რეკომბინანტები

იმისათვის, რომ წარმოქმნას ფართო გენეტიკური მრავალფეროვნება და წარმატებით განაგრძოს არსებობა გარემოში [154]. ბოლო 20 წლის განმავლობაში, დიდი ყურადღება ექცეოდა სწავლებას PVY ვირუსის მრავალჯერადი რეკომბინანტების შესახებ, რადგან დიდი გავლენა აქვს კარტოფილის მოსავალზე [137].

კვლევის ფარგლებში ვცადეთ შეგვემუშავებინა დუბლექს RT-PCR მეთოდი, საქართველოში გავრცელებული PVY^{N-Wilga} -სა და PVY^N შტამების დეტექციისათვის. ჩვენს მიერ გამოყენებულ იქნა პრაიმერები, რომლებიც სპეციფიკურია PVY^{N-Wilga} -სა და PVY^N შტამის. კვლევის ფარგლებში მოხდა R1 რეგიონის მიმდებარედ 30 პრაიმერის გამოცდა. რომელიც განვითარებულ იყო კომპანია IDT ვებ გვერდის გამოყენებით. ამასთან ერთად შემუშავებულ იქნა დუბლექს RT-PCR მეთოდის რეაქციისათვის საჭირო კონცენტრაციები. აღმოჩნდა, რომ RT-PCR - რეაქციით საუკეთესო შედეგები მიიღება შემდეგი კონცენტრაციების დროს: 3,5 მმოლ MgCl₂, 0,4 მმოლ dNTPs და 1U Taq დნმ პოლიმერაზა (Oxgen). კვლევის ფარგლებში ასევე განისაზღვრა RT-PCR რეაქციის ტემპერატურული მაჩვენებლები. 96°C 3 წთ, 96°C წმ, 55°C 1წთ და 15 წმ, 72°C 2 წთ, 26 ციკლი, საბოლოო ექსტენცია 72°C 10 წთ.

აგაროზას გელი, სადაც დუბლექს PCR მეთოდით მოხერხდა PVY -ს რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია. PVY^N 658 BP, xolo PVY^NWIL 778 BP.

სურათი #13



ჩვენს მიერ წარმოდგენილ დუპლიკატულ RT-PCR მეთოდის ვალიდაცია მოხდა საქართველოში აღმოჩენილ რეკომბინანტული შტამებზე და ასევე საკონტროლო შტამებზე რომელიც შეძენილ იქნა AGDIA კომპანიიდან. კვლევის შედეგად დადასტურდა, რომ ჩვენს მიერ ამოჩეული გენომური რეგიონი და პრაიმერების ზომები, საშუალებას გვაძლევს ერთი რეაქციით შევამოწმოთ PVY^N-Wilga -სა და PVY^N შტამის არსებობა კარტოფილში.

3.5. კარტოფილის ჯიშების რეზისტენტობა რეკომბინანტული შტამების მიმართ

კარტოფილის დაავადებების მიმართ მდგრადი ჯიშების გამოყენება სადღეისოდ, წარმოადგენს ეფექტურ საშუალებას ვირუსული დაავადებების პრევენციისა და ელიმინაციის მიზნით.

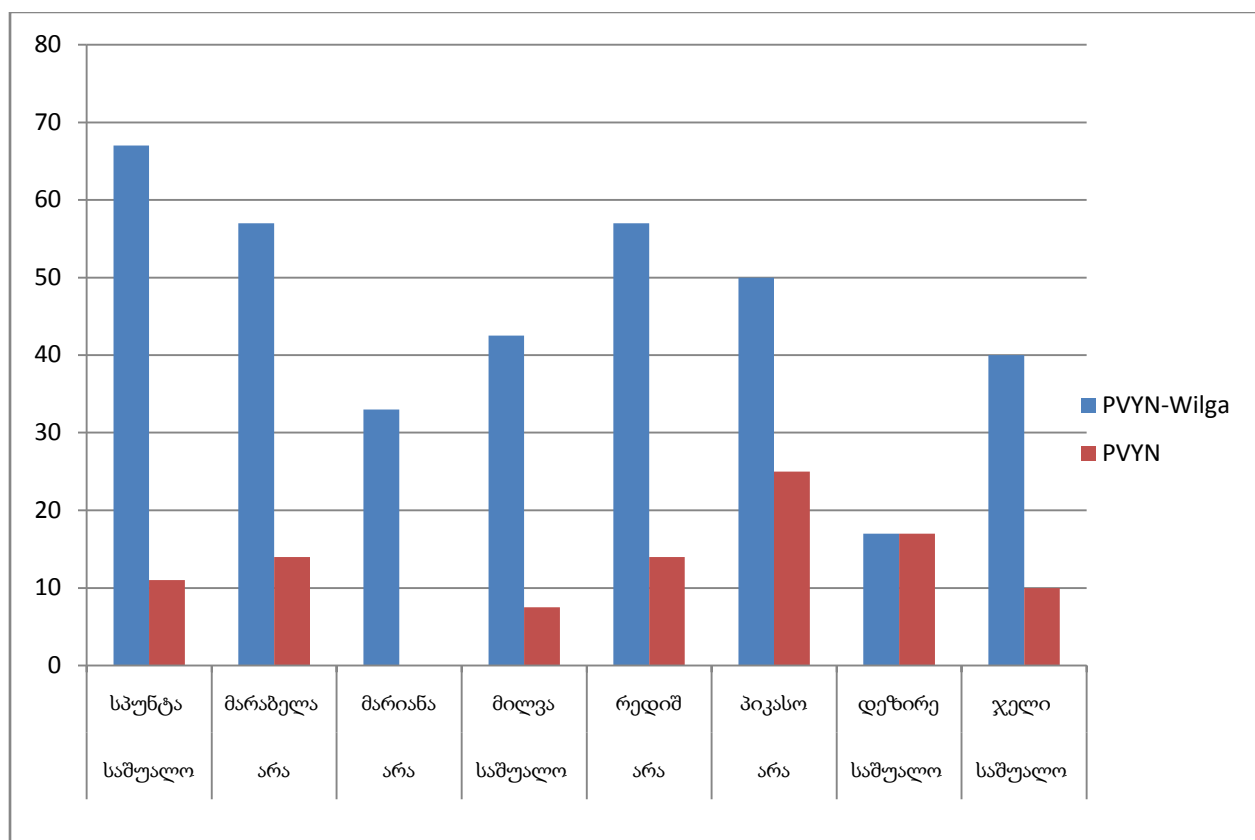
ჩვენი კვლევების შედეგად მიზნად დავისახეთ შეგვესწავლა, არსებობდა თუ არა PVY^NWi და PVY^N შტამის ტოტალურ ინფიცირების დონეს შორის განსხვავება საქართველოში გაყიდვად რეზისტენტულ და არარეზისტენტულ ჯიშებს შორის. აღმოჩნდა, რომ PVY^NWi და PVY^N შტამების მიერ რეზისტენტული და არარეზისტენტული ჯიშების დაინფიცირების ხარისხებს შორის არ არის მნიშვნელოვანი განსხვავება ($P>0,05$).

საქართველოში აწარმოებენ ევროპული წარმოშობის კარტოფილის ჯიშებს, რომელთა დიდი უმეტესობა დარაიონება მოხდა 1972-1995 წლებში. ეს საკმაოდ ძველი ჯიშებია, რომლებსაც არ გაუვლიათ დაავადების მიმართ მდგრადობის კვლევა. ევროპული წარმოშობის სახეობები, რომლებიც ფართოდ არის საქართველოში გავრცელებული, იყიდება როგორც PVY-ს მიმართ რეზისტენტულობის მქონე სათესლე მასალა. ადრე მიიჩნეოდა, რომ Desiree და Spunta -ს ქონდა PVY-ს მიმართ კარგი რეზისტენტულობა, მაგრამ სადღეისოდ მიიჩნევა, რომ

აღნიშნული ჯიშები მგრძნობიარეა PVY^{NTN} ან PVY^{NW} მიმართ რასაც ადასტურებს ჩვენს მიერ ჩატარებული ექსპერიმენტები [168].

PVY- ვირუსის მიმართ რეზისტენტული და არარეზისტენტული ჯიშების დახასიათება.

ცხრილი #12.



ამერიკის შეერთებული შტატებში PVY ვირუსის მასშტაბური გავრცელება გამოიწვია, ახალი რეკომბინანტული შტამების წარმოქმნამ და ამასთან ერთად ისეთი საწარმოო ჯიშების ფართოდ წარმოებამ, როგორიცაა Russet Norkotah და Shepody. აღნიშნულ ჯიშებს გააჩნიათ უსიმკტომო დაავადების ეტიოლოგია, რაც თითქმის

შეუმჩნეველს ხდის დაავადების მიმდინარეობას. აღსანიშნავია, რომ ჯიშებს გააჩნიათ ზოგადი მდგრადობა PVY ვირუსის მიმართ, მაგრამ მიუხედავად მცენარის რეზისტენტობისა, აღმოჩნდა რომ სათესლე კარტოფილის 40% დაინფიცირებული იყო ახალი რეკომბინანტული ვირუსული შტამით PVY^{N-NTN} [1]. აღსანიშნავია პოლონეთის მაგალითი. 2002 წელს როდესაც ქვეყანაში თითქმის სათესლე კარტოფილი 90% დაავადდა PVY^{NW} შტამით, ქვეყანაში შეიმუშავეს სტრატეგია, რათა მულტიდისციპლინარული მიდგომით მოეხდინათ დაავადების გავრცელების პრევენცია. პოლონეთის რეგიონებში დაიწყო, ამა თუ იმ რეზისტენტული ჯიშების გამოცდა, რათა მომდევნო წლებში ეტაპობრივად მოეხდინათ PVY^{NW} შტამის მიმღები ჯიშების ჩანაცვლება ქვეყანაში. ამასთან ერთად ქვეყნის სასერტიფიკაციო ორგანოში დაინერგა RT-PCR ტესტირების სისტემა, რაც საშუალებას იძლევა მაღალი სიზუსტით მოხდეს რეკომბინანტული შტამების მუდმივი კონტროლი.

კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ საქართველოში კარტოფილის სათესლე მასალის ინფიცირება სცილდება ყველა საერთაშორისო დასაშვებ სტანდარტს. ამასთან ერთად დადგინდა, რომ ქვეყანაში გავრცელებული PVY ვირუსის მიმართ რეზისტენტული ჯიშები არ ამჟღავნებენ რეზისტენტობას PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების მიმართ. ჩვენი კვლევა ცხადყოფს, რომ ქვეყანაში მხოლოდ ვიზუალური ინსპექციით ვერ მოხერხდება გავრცელებული რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია. აუცილებელია მუდმივად ხდებოდეს სათესლე კარტოფილის ხარისხის კონტროლი და შემოწმება PVY რეკომბინანტულ შტამებზე. როდესაც ცნობილი იქნება თუ რომელ რეგიონში რა ვირუსული შტამებია გავრცელებული შესაბამისად უნდა მოხდეს რეზისტენტული ჯიშების გამოცდა და დარაიონება.

3.6. კარტოფილის სათესლე მასალის სერტიფიკაცია საინფორმაციო საკონულტაციო ცენტრების ჩართულობა

სათესლე კარტოფილის სერტიფიცირების მნიშვნელობა უკვე აღიარებულია მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში. სერტიფიცირება წარმოადგენს კარტოფილის პათოგენების ელიმინაციის ერთ-ერთი ძირითად ბრძოლის მეთოდს. კარტოფილის სათესლე მასალის სერტიფიცირება უზრუნველყოფს კარტოფილის დაავადებებისაგან დაცვას და მის მაღალ მოსავლიანობას. ქვეყანაში სერტიფიცირების წესებისა და რეგულაციების ზედმიწევნით ზუსტად შესრულება კარტოფილის უვირუსო სათესლე მასალის არსებობის ძლიერი საწინდარია.

ევროპის უმეტეს ქვეყანაში შემუშავებულია მკაცრი რეგულაციები კარტოფილის სათესლე მასალის სერტიფიცირებისათვის. ბოლქვის პირველი თაობა ითვლება, როგორც CLASS SS და მისი წარმოება ხდება სათბურებში. მინიტუბერებიდან მიღებული მეორე თაობა ითვლება როგორც პირველი თაობის თესლი (S). შემდგომი თაობა ითვლება როგორც მეორე თაობის სათესლე მასალა და მინიჭებული აქვს SE. ამასთან ერთად არსებობს საშუალება რომ იწარმოებოდეს მეოთხე და მეხუთე თაობის სათესლე მასალა როგორცაა: E1, E2, E3, A, B. აღსანიშნავია, რომ ასევე მკაცრად არის დადგენილი თუ რა დასაშვებ ნორმას არ უნდა აღემატებოდეს ამა თუ იმ ვირუსის რაოდენობა. მაგალითად, PVY ვირუსი და მისი რეკომბინანტული შტამების რაოდენობა სხვადასხვა კლასის სათესლე მასალაში მკაცრად კონტროლდება. $SE =$ კლასში PVY ვირუსის დასაშვები ნორმა არის 0; $E1 = 0.2\%$; $E2 = 0.5\%$; $E3 = 1\%$; $A = 4\%$ და B კლასის $= 10\%$. ამერიკის შეერთებულ შტატებში PVY^N შტამი წარმოადგენს საკარანტინო პათოგენს, რომლის რეგულირება

ხდება USDA-APHIS სისტემის მიხედვით აღნიშნული სისტემა ითვალისწინებს, რომ სათესლე მასალის დაინფიცირების შემთხვევაში, სათესლე მასალის გაყიდვა ან ექსპორტი ამერიკის შეერთებულ შტატებში ნებადართული არ არის.

ევროპისა და ამერიკის ქვეყნებში შემუშავებულია ასევე რეგულაციები, თუ რომელ რეგიონში შეიძლება უვირუსო სათესლე კარტოფილის წარმოება. ყოველივე დაფუძნებულია ქვეყანაში გავრცელებული კარტოფილის ვირუსების შესწავლაზე, სადაც სტატისტიკური ანალიზით გამოთვლილია თუ რომელ რეგიონშია ფიტოპათოგენური დაავადების გავრცელების ნაკლები რისკი. ევროკავშირის კომისიამ Mecklenburg-Vorpommern (Germany) გამოაცხადა დასაშვებ ზონად უვირუსო სათესლე კარტოფილის საწარმოებლად. ასევე ცნობილია, რომ ინგლისში უვირუსო სათესლე კარტოფილის წარმოება მხოლოდ ნებადართულია ჩრდილოეთ ირლანდიისა და შოტლანდიაში, ხოლო პორტუგალიაში – აზორის რეგიონში.

მსოფლიოს სასერტიფიკაციო ორგანოებში ფართოდ არის აპრობირებული DAS ELISA- მეთოდის გამოყენება, რათა მოხდეს კარტოფილის ვირუსების დიდი რაოდენობით სკრინინგი. რაც საშუალებას გვაძლევს სათესლე მასალის ხარისხის კონტროლის რათა მინიმუმამდე იყოს დაყვანილი ამათუიშ ვირუსის ეპიდემიის რისკი. ჰოლანდიის NAK კარტოფილის სასერტიფიკაციო სისტემამ უკვე ფართოდ დაწერა RT-PCR რეაქციით, PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების დეტექცია. აღსანიშნავია, რომ გამოიყენება 50 ტუბერის ანალიზი, სადაც ხდება ვირუსის რეკომბინანტული შტამების განსაზღვრა. სადღეისოდ, უკვე მრავალი ქვეყნის კარტოფილის სასერტიფიკაციო სისტემაში ფართო ინერგება აღნიშნული მეთოდით რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაცია.

ევროპის კარტოფილის სასერტიფიკაციო სისტემის ერთ-ერთ მთავარ რეგულაციას წარმოადგენს ჯიშური სიწმინდის დაცვა, რაც იცავს ფერმერს ფალსიფიცირებული სათესლე მასალისაგან. აღსანიშნავია, რომ რეზისტენტული ჯიშების გამოყენება იმ რეგიონებში სადაც ფართოდაა გავრცელებული ამათუიშ კარტოფილის ვირუსები, დაავადების კონტროლის ერთ-ერთ ძირითადი მეთოდია.

იმ შემთხვევაში თუ მოხდება ფერმერზე ფალსიფიცირებული ჯიშის მიწოდება ეს რა თქმა უნდა გამოიწვევს ფერმერის, როგორც ეკონომიურ დანაკარგს, ასევე დაავადების ეპიდემიის საფრთხის გაზრდას. კარტოფილის ვირუსის მიმართ რეზისტენტული ჯიშების სადემონსტრაციო ნაკვეთები მოწყობილია სათესლე მასალის მწარმოებელ რეგიონებში, სადაც მუდმივად ხდება რეკომბინანტული შტამების გავრცელების მონიტორინგი და ასევე მუდმივად იცდება რეგიონში გავრცელებული რეკომბინანტული შტამის მიმართ მდგრადი ჯიშები.

სადღეისოდ საქართველოში არ არსებობს არც ერთი სამეცნიერო კვლევითი ჯგუფი, რომელიც რეგულარულად იკვლევს ჩვენს ქვეყანაში კარტოფილის ვირუსების გავრცელებას ან აფასებს მათ მიერ მიყენებულ ზიანს. ამასთან ერთად, არ არსებობს ქვეყანაში გავრცელებული რეკომბინანტული შტამების იდენტიფიკაციის მეთოდები, რათა დაავადების აღმოჩენა მოხდეს მაღალი სიზუსტით და სწრაფად. რეგიონებში გავრცელებული კარტოფილის ვირუსების მიმართ რეზისტენტული ჯიშები იწარმოება ყოველგვარი ჯიშური სიწმინდის დაცვის გარეშე, რაც ერთი ორად ზრდის ეპიდემიის საფრთხეს. ქვეყანაში არ არის განსაზღვრული თუ რომელი მეკარტოფილეობის რეგიონში შეიძლება იწარმოებოდეს კარტოფილის სათესლე მასალა, რათა მინიმუმადე იყოს დაყვანილი სათესლე მასალის დაინფიცირება. ყოველივე ზემოთქმულიდან გამომდინარეობს რომ, საქართველოს მეკარტოფილეობის დღევანდელი ფიტოსანიტარული მდგომარეობა სავალალოა, ხოლო ადგილობრივი კარტოფილის მწარმოებლების პროდუქციას, არ აქვს კონკურენტუნარიანი ფასი და ხარისხი.

მიღებული შედეგები ცხადყოფს, რომ აუცილებელია ქვეყანაში დაინერგოს კარტოფილის სერტიფიცირების სისტემა, რათა მოხდეს ეტაპობრივად კარტოფილის სათესლე მასალის დაინფიცირების დონის შემცირება. კარტოფილის სერტიფიცირების სისტემის მნიშვნელობა, დაფუძნებულია დაავადების სწრაფი და სწორი იდენტიფიკაციის მეთოდების გამოყენებაზე. ELISA მეთოდის და RT-PCR მეთოდის გამოყენებით, შესაძლებელია მეკარტოფილეობის რეგიონში

გავრცელებული ძირითადი ვირუსების რეგულარული აღწერა და მონიტორინგი. რაც, საშუალებას მოგვცემს ამათუიშ სათესლე მასალის მწარმოებლებს, მივაწოდოთ დეტალური ინფორმაცია მათ რეგიონში არსებული ფიტოსანიტარულ მდგომარეობის შესახებ. კვლევის ფარგლებში შემუშავებულია დუპლიკატის RT-PCR მეთოდი, რომელიც ფართოდ შეიძლება დაინერგოს ქართულ სასერტიფიკაციო სისტემაში. აღნიშნულმა მეთოდმა გაიარა ვალიდურობის ტესტი, საქართველოში აღმოჩენილი PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების მიმართ

კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ ახალქალაქის რეგიონი წარმოადგენს ყველაზე ნაკლებად დაინფიცირებულ რეგიონს, სადაც შეიძლება სათესლე კარტოფილის წარმოება. ახალქალაქი, რომელის მდებარეობაა ზღვის დონიდან 1400-2000 მეტრი, არახელსაყრელი გარემოა ცირკულარული და არაცირკულარული ვექტორების წინააღმდეგ. ასევე აღმოჩნდა, რომ ქვეყანაში გაყიდვადი PVY ვირუსის მიმართ რეზისტენტული ჯიშები, არ ამჟღავნებენ რეზისტენტობას აღნიშნული ვირუსის რეკომბინანტული შტამების მიმართ (PVY^NWi და PVY^N). ყოველივე ცხადყოფს, რომ აუცილებელია ქვეყანაში მოხდეს ჯიშების დარაიონება და ჯიშური სიწმინდის დაცვა, რეგიონებში გავრცელებული შტამების მიხედვით. აღნიშნული დარაიონება, საშუალებას მოგვცემს სასერტიფიკაციო ორგანომ აკონტროლოს ჯიშური სიწმინდე, რათა ფერმერებს მიეწოდოთ მათ რეგიონებში გავრცელებული რეკომბინანტული შტამების მიმართ მდგრადი ჯიშები.

4. დასკვნა

1. დადგენილ იქნა, რომ საქართველოს მეკარტოფილეობის სამ ძირითად რეგიონში (ახალქალაქი, ახალციხე, მარნეული), PVY ვირუსებით დაინფიცირების დონე 63%-ს აღემატება, ხოლო PVX ვირუსის გავრცელების ხარისხი კი 7%-ია. კარტოფილის შერეული ინფექციით დაინფიცირების ტოტალური დონე 8%-ია. კვლევის ფარგლებში PLRV ვირუსი არ იქნა გამოვლენილი. გარდა კარტოფილისა, PVY და PVX ვირუსები აინფიცირებენ გოგრისებრთა და ძაღლყურძენასებრთა ოჯახების სხვა მცენარეებსაც რაც ცხადყოფს, რომ ქვეყანაში ეპიდემიის წარმოქმნის რისკები გაზრდილია.

2. სტატისტიკური chi-squared (χ^2) ტესტის მეშვეობით, დადგენილ იქნა, რომ ახალქალაქის რეგიონში მნიშვნელოვნად დაბალია ვირუსების გავრცელების ტოტალური მაჩვენებელი $CI > 0.01$. ახალქალაქი მიეკუთვნება მეკარტოფილეობის III რეგიონს, რომელის მდებარეობაა ზღვის დონიდან 1400-2000 მეტრი. ყოველივე ცხადყოფს, რომ ცივ კლიმატურ პირობებში ვირუსული ვექტორების გავრცელება შეზღუდულია და აღნიშნული რეგიონი შეიძლება ჩაითვალოს პრიორიტეტულ რეგიონად უვირუსო სათესლე მასალის საწარმოებლად.

3. პირველად საქართველოში RT-PCR მეთოდის გამოყენებით შესწავლილია PVY ვირუსის რეკომბინანტული შტამების (PVY^{NWi} , PVY^{NTN} , PVY^N , PVY^{NTN} , PVY^{NA-NTN} , PVY^O) გავრცელების არეალი. დადგინდა, რომ საქართველოში მასიურად არის გავრცელებული PVY^{NWi} რეკომბინანტული შტამი (56%-ით), ხოლო ნაკლებადაა გავრცელებული PVY^N რეკომბინანტული შტამი (7%). კვლევის ფარგლებში ვერ მოხერხდა PVY^{NTN} , PVY^{NA-NTN} და PVY^O ვირუსული შტამების აღმოჩენა საქართველოში. აღსანიშნავია, რომ PVY^N რეკომბინანტული შტამი ითვლება საკარანტინო შტამად მთელს მსოფლიოში.

4. ახალციხეში აღმოჩენილი PVY^NWi და PVY^N შტამის იდენტიფიკაციისათვის ჩატარებულია შესაბამისი R1 უბნის სეკვენირება, სადაც წარმოდგენილია P1,HC-PRO, P3 გენომის ღია წაკითხვის ჩარჩოები. სეკვენირებული ფრაგმენტების BLAST ანალიზით გაირკვა, რომ საქართველოში აღმოჩენილი PVY^NWi და PVY^N შტამები 98-99 % სიზუსტით შეესაბამება ევროპაში აღმოჩენილ შტამებს. ყოველივე აღნიშნული ცხადყოფს, რომ აუცილებელია გამკაცრდეს საბაჟო რეგულაციები, რათა ქვეყანაში შეიზღუდოს ფიტოპათოგენური ორგანიზმების გავრცელება.

5. შემუშავებულია ვირუსების იდენტიფიკაციის საჭირო დუბლექს RT-PCR მეთოდი, რომლის დროში ხანგრძლივობა შეადგენს 45 წუთს, რაც შეიძლება ფართოდ დაინერგოს კარტოფილის სასერტიფიკაციო სისტემაში. აღნიშნული მეთოდოლოგია საშუალებას იძლევა PVY^NWi და PVY^N შტამების ერთი რეაქციით იდენტიფიკაციას, რას ამცირებს დაავადების დეტექციისათვის საჭირო ხარჯებს.

6. სტატისტიკური chi-squared (χ^2) ტესტით დადგენილ იქნა, რომ PVY^NWi და PVY^N შტამების რეზისტენტულ და არარეზისტენტულ კარტოფილის ჯიშების დაინფიცირების ხარისხს შორის არ არის მნიშვნელოვანი განსხვავება ($P>0,05$). საქართველოში ფართოდ გავრცელებული და გაყიდვაში გამოყენებული, ევროპული წარმოშობის კარტოფილის სახეობები რომლებიც ითვლებოდა PVY ვირუსის მიმართ რეზისტენტულად, მგრძნობიარე არიან PVY^N და PVY^NWi რეკომბინანტული შტამების მიმართ.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Ugent, D., Pozorski, S. and Pozorski, T (1982) Prehistoric remains of sweet potato from the Casma Valley, Peru. *Phytologia* 49,401-415.
2. Haase, S., Philippot, L., Neumann, G., Marhan, S., Kandeler, E. "Local response of Bacterial Densities and Enzyme activities to Elevated Atmospheric CO₂ and different N Supply in the Rhizosphere of *Phaseolus vulgaris* L." *Soil Biology and Biochemistry*, 2008: 40:1225-1234.
3. Zedginidze V., Shengelia J., Khachidze Z., Goderdzishvili G., - Potato Seed Production basics, Tbilisi 2010 – pp.76
4. Haase, N. U. 2008. The canon of potato science, the nutritional value of potatoes, *Potato Res*, 50: 4.
5. Meladze G.G., Meladze M.G.-Perspective Vine Propagation Zone in of the Georgia Considering Expected Global Climate Change. *Bulletin of the Georgian Academy of Sciences*, vol. 172, #2,2005.
6. Rohloff H. 1979. Beitrag zur Analyse der Kartoffeln -Y-Virus Epidemie in 1976. *Gesunde Pflanzen* 31: 296–299.
7. Wetter, C. 1972. Potatoe Virus M. Descriptions Of Plant Viruses. 87. Commonw. Mycol. Inst./ Assoc, Appl. Biol., Kew, Surrey, England.
8. Brunt, A. Viruses of Plants [Text] / A. Brunt, K. Crabtree, M. Dallwitz, A. Gibbs, L. Watson. – Wellingford: CAB International, 1996. – P. 44-53.
9. Mayo, M. Nucleotide sequence of potato leafroll luteovirus RNA [Text] / M. Mayo, D. Robinson, C. Jolly, L. Hyman // *J.Gen. Virol.* – 1989. – V. 70. – P.1037-1051.

10. Rowhani, A. Purification and characterization of potato leafroll virus [Text] / A. Rowhani, R. Stace-Smith // *Virology*. – 1979. – V. 98. – P. 45-54.
11. Loebenstein, G. Improved detection of potato leafroll luteovirus in leaves and tubers with a dioxigenin-labeled cRNA probe / G. Loebenstein, F. Akad, V. Filatov // *Plant Dis.* – 1997. – V. 81. – P. 489-491.
12. Skryabin, K. G., The nucleotide sequence of potato virus X RNA [Text] / K. G. Skryabin, A. S. Kraev, S. Y. Morozov, M. N. Rozanov, B. K. Chernov, L. I. Lukasheva, J. G. Atabekov // *Nucleic Acids Res.*-1988.– V.16.– P.10929-10930.
13. Were H.K., Narla R.D., Nderitu J.H., Kidanemariam H.M.,1996. Evaluation of some promising potato clones for tolerance to potato leafroll virus and for resistance to its major vectors. *African Crop Protection Journal* **3**: 55-59.
14. Bartels, R., 1954. Serologische Untersuchungen über das Verhalten des Kartoffel-A-Virus in Tabakpflanzen.*Phytopath. Z.* 21:395–406.
15. Hooker, W. J. 1981. In: *Compendium of Potato Diseases*. Minnesota, USA. The American Phytopathological Society.68 -76 pp.
16. Kerlan, C. 2008. Potato viruses. In: Mahy, B.W & Regenmortel, M.H.V (Eds).201 Desk encyclopedia of plant and fungal virology. San Diego, California, USA 458- 47 pp.
17. Foster, G. D. & Mills, P. R. 1992. The 3'-nucleotide sequence of an ordinary strain of potato virus S. *Virus Genes* **6**: 213-220.

18. Struik, H. C. Seed potato technology [Text] / H. C. Struik, S. G. Wiersema. – Wageningen: Wageningen Pres., 1999. – 383 p1999; Анисимов, Б. В. Защита картофеля от болезней вредителей и сорняков [Текст] / Б. В. Анисимов, Г. Л. Белов, Ю. А. Варицев. – М.: Картофелевод, 2009. – 272 с.
19. Брант, А. А. Основные вирусы заражающие культуру картофеля [Текст] / А. А. Брант // Вирусные и вирусоподобные болезни и семеноводство картофеля. – СПб.: Инновационный центр защиты растений, 2005. – С. 13-19.
20. Pelletier, Y. A new approach for the identification of aphid vectors (Hemiptera: Aphididae) of potato virus Y [Text] / Y. Pelletier, X. Nie, M. A. Giguère , U. Nanayakkara, E. Maw, R. Foottit // J. Econ. Entomol. – 2012. – V. 10. – N 6. – P. 1909-1914.
21. Robaglia, C. M. Nucleotide sequence of potato virus Y (N strain) genomic RNA [Text] / C. M. Robaglia, M. Durand-Tardif, G. Tronchet // J. Gen. Virology. – 1989. – V. 70. – P. 935-947.
22. Van der Vlugt, A. A. Determination of aphid transmission efficiencies for N, NTN and Wilga strains of potato virus Y [Text] / M. Verbeek, P. G. M. Piron, A. M. Dulleman, C. Cuperus, and R. A. A. van der Vlugt // Annals of Applied Biology. – 2010. – V.156. – P.39-49.
23. de Bokx J. A., Huttinga H. (1981) Potato virus Y. Descriptions of plant viruses, No. 242. Commonw Mycol Inst/Assoc Appl Biol, Kew, England
24. Singh R. P., Valkonen J.P., Gray S.M., Boonham N., Jones R.A., Kerlan C., Schubert J. (2008) Discussion paper: The naming of Potato virus Y strains infecting potato. Arch. Virol. 153 (1): 1–1.
25. Jones RAC (1990) Strain group specific and virus specific hypersensitive reactions to infection with potyviruses in potato cultivars. Ann Appl Biol 117:93–105.

26. Ellis P., Stace-Smith R., Billiers G. (1997) Identification and geographic distribution of serotypes of potatoes virus Y. *Plant Dis.* 81: 481-484.
27. Fanigliulo A., Comes S. (2005) Characterization of Potato virus Y nnp strain inducing veinal necrosis in pepper: a naturally occurring recombinant strain of PVY. *Arch. Virol.* 150 (4): 709-720.
28. Kerlan C. (2006) Potato virus Y. AAB descriptions of plant viruses no 414.
29. Karasev A.V., Gray S.M., (2013) Continuous and emerging challenges of Potato virus Y in potato. *Annu Rev Phytopathol* 51: 571–586
30. Beczner L., Hovarth H., Romanyi I., Forester H. (1984) Studies on the etiology of tuber necrotic ring spot diseases in potato. *Potato Res* 27 (4): 339-353.
31. Ramirez-Rodriguez *et.al.* 1996
32. McDonald J.G., Singh R.P. (1996) Host range, symptomology, and serology of isolates of Potato virus Y (PVY) that share properties with both PVY^N and PVY^O strain groups *American Potato J* 73 (7): 309-315.
33. Kogovsek P., Gow L., Pompe-Novak M., Gruden, K., Foster G.D., Boonham N., Ravnikar, M. (2008) *J. Virol. Methods* 149: 1-11.
34. Lorenzen J.H., Meacham T., Berger P.H., Shiel P.J., Crosslin J.M., Hamm P.B., Kopp H. (2006) Whole genome characterization of Potato virus Y isolates collected in the western USA and their comparison to isolates from Europe and Canada. *Arch Virol* 151: 1055–1077
35. CIP report 2010
36. Gagnon R, Drouin M, Peters D (2007) Canadian potato situation and trends 2006-2007. *Horticulture and Special Crops Division*, pp 1-36.

37. Khurana 2004
38. Radcliffe E. B., Ragsdale D. W. (2002) *J. Potato Res.* 79: 353-386.
39. Genger RK, Charkowski AO (2007) Certified Seed Potatoes –Health Insurance for Your potatoe Crop, Wiskonsin Seed Potatoe Certification Prorgam, Madison, WI.
40. Gagnon R, Drouin M, Peters D (2007) Canadian potato situation and trends 2006-2007. Horticulture and Special Crops Division, pp 1-36.
41. Sanfaçon, H. (2005). Replication of positive-strand RNA viruses in plants: Contact points between plant and virus components. *Canadian Journal of Botany* 83, 1529-1549.
42. Rolland M, Glais L, Kerlan C & Jacquot E (2008) A multiple single nucleotide polymorphisms interrogation assay for reliable Potato virus Y group and variant characterization. *Journal of Virological Methods* 147, 108–117.
43. Rolland M, Kerlan C & Jacquot E (2009) The acquisition of molecular determinants involved in Potato virus Y necrosis capacity leads to fitness reduction in tobacco plants. *Journal of General Virology* 90, 244-252.
44. Roossinck MJ (1997) Mechanisms of plant virus evolution. *Annual Review of Phytopathology* 35, 191-209.
45. Ross H (1986) Potato breeding—problems and perspectives. *Journal of Plant Breeding Supplement* 13, Paul Parey, Belin & Hamburg.
46. Rupar M, Kogovsek P, Pompe-Novak M, Gutiérrez-Aguirre I, Delaunay A, Jacquot E & Ravnikar M (2013) Assessment of SNaPshot and single step RTqPCR methods for discriminating Potato virus Y (PVY) subgroups. *Journal of Virological Methods* 189, 93–100.

47. Saitou N & Nei M (1987) The neighbour-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4, 406-425.
48. Salanki K, Gellert A, Naray-Szabo G & Balazs E (2007) Modelling based characterisation of the elicitor function of amino acid 461 of cucumber mosaic virus 1a protein in the hypersensitive response. *Virology* 358, 109-118.
49. Sanjuán R, Nebot MR, Chirico N, Mansky LM, Belshaw R, (2010) Viral mutation rates *Journal of Virology* 84, 9733–9748.
50. Saucke H & Doring TF (2004) Potato virus Y reduction by straw mulch in organic potatoes. *Annals of Applied Biology* 144, 347–355.
51. Shukla DD, Ward CW & Brunt AA (1994) Genome structure, variation and function. Pages 74-110 in: *The Potyviridae*. CAB Int., Wallingford, UK.
52. Shukla DD & Ward CW (1988) Amino acid sequence homology of coat proteins as a basis for identification and classification of the potyvirus group. *Journal of General Virology* 69, 2703-2710.
53. Shukla DD, Jilka J, Tosic I & Ford RE (1989) A novel approach to the serology of potyviruses involving affinity-purified polyclonal antibodies directed towards virus-specific N termini of coat proteins. *Journal of General Virology* 70, 13-23. Sigvald R (1984) The relative efficiency of some aphid species as vectors of potato virus YO (PVYO). *Potato Research* 27, 285-290.
54. Sigvald R (1985) Mature-plant resistance of potato plants against potato virus Y° (PVY°). *Potato Research* 28, 135-143.
55. Sigvald R (2008) Forecasting Potato virus Y using suction traps. *Potato Research* 51, 175-208.

56. Schubert J (2008) Discussion paper: The naming of Potato virus Y strains infecting potato. *Archives of Virology* 153, 1-13.
57. Smith KM (1931) On the composite nature of certain potato virus diseases of the mosaic group as revealed by the use of plant indicators and selective methods of transmission. *Proceedings of the Royal Society of London* 109, 251-267.
58. Spooner DM, Nunez J, Rodriguez F, Naik PS & Ghislain M (2005) Nuclear and chloroplast DNA reassessment of the origin of Indian potato varieties and its implications for the origin of the early European potato. *Theoretical Applied Genetics* 110, 1020-1026.
59. Steinhaur DA & Holland JJ (1987) Rapid evolution of RNA viruses. *Annual Review of Microbiology* 41, 409-433.
60. Syller J (2012) Facilitative and antagonistic interactions between plant viruses in mixed infections. *Molecular Plant Pathology* 13, 204-216.
61. Clark M.F. & Adams A.N., (1977), *J. Gen. Virol.* 34, 475-483.
62. Schubert J., Fomitechewa V., Sztangert-Wisniewska J., (2007) *J.Virology* 140:66-74.
63. Nie B., Singh A., Sullivan A., Xie C., Nie X., (2012), *Plant Disease*, 96 (10): 1422-1429.
64. Karasev A.V., Gray S.M., (2013) *Annu Rev Phytopathol.* 51: 571–586.
65. de Bokx J. A., Huttinga H., (1981), No. 242. *Commonw Mycol Inst/Assoc Appl Biol*, Kew, England.
66. Hane, D.C., Hamm P.B., (1999), *Plant Dis.* 83:43-45.
67. Daiber C.C., Schöll S.E. (1959) *J. Entom. Soc. South. Africa* 22: 495-520.

68. Haverkort A.J., Boris V. (2007) Potatoes production and innovative technologies. Wageningen Acad. Publish. pp 345.
69. Chrzanowska M. (1991) New isolates of the necrotic strains of potato virus Y (PVY^N) found recently in Poland. *Potato Res* 34 (2): 179-182.
70. Chrzanowska M., Doroszevska T. (1997) Comparison between PVY isolates obtained from potato and tobacco plants grown in Poland. *Phytopathol. Pol* 3: 63-71.
71. Agrios G.N., Plant Pathology. 4th ed. Academic Press, New York, USA, (1997) - 635 pp.
72. Galvino-costa S.B.F., Reis Figueira A., Plant Pathology (2012) 61, 388-398.
73. Blanco-Urgoiti B., Tribodet M., Leclere S., Ponz F., Perez de San Roman C., Legorburu F.J., Kerlan., (1998) *Eu. J. Plant. Path* 104: 811-819.
74. A'Brook J (1964) The effect of planting date and spacing on the incidence of groundnut rosette disease and of the vector, *Aphis craccivora* Koch, at Mokwa, Northern Nigeria. *Annals of Applied Biology* 54, 199–208.
75. Ameline A, Couty A, Martoub M, Giordanengo P (2009) Effects of mineral oil application on the orientation and feeding behaviour of *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphidae). *Acta Entomologica Sinica* 52, 617–623.
76. Ameline A, Couty A, Martoub M, Sourice S, Giordanengo P (2010) Modification of *Macrosiphum euphorbiae* colonisation behaviour and reproduction on potato plants treated by mineral oil. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 135, 77–84

77. Albrecht A (2012) Atlas of the Aphids of Finland, available at <http://www.luomus.fi/elaintiede/hyonteiset/tutkimus/kirvat/atlas.htm>. [accessed on 10 November 2012].
78. Bagnall RH (1977) Resistance to aphid-borne viruses in the potato. In Aphids as virus vectors., KF Harris, K Maramorosh, eds. (New York, NY, USA: Academic Press), pp. 501–522.
79. Basky Z (2002) The relationship between aphid dynamics and two prominent potato viruses (PVY and PLRV) in seed potatoes in Hungary. *Crop Protection* 21, 823–827.
80. Beczner L, Horvath H, Romhanyi L, Foster H (1984) Etiology of tuber ringspot disease in potato. *Potato Research* 27, 339–52.
81. Blackman RL, Eastop VF (2000) Aphids on the world's crops : an identification and information guide. Wiley, Chichester:, UK.
82. Blackman RL, Eastop VF (2007) Taxonomic issues. In Aphids as crop pests., HF van Emden, R Harrington, eds. CABI, Wallingford, UK. pp. 1-32.
83. Boquel S, Ameline A, Giordanengo P (2011) Assessing aphids potato virus Y-transmission efficiency: A new approach. *Journal of Virological Methods* 178, 63–67.
84. Boquel S, Giguère MA, Clark C, Nanayakkara U, Zhang J, Pelletier Y (2013) Effect of mineral oil on Potato virus Y acquisition by *Rhopalosiphum padi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 148, 48–55.
85. Boonham N, Walsh K, Hims M, Preston S, North J, Barker I (2002) Biological and sequence comparisons of Potato virus Y isolates associated with potato tuber necrotic ringspot disease. *Plant Pathology* 51, 117–26.

86. Boiteau G, Singh RP (1982) Evaluation of mineral oil sprays for reduction of virus Y spread in potatoes. *American Potato Journal* 59, 253–262.
87. Boiteau G, Singh R, Parry R, Pelletier Y (1988) The spread of PVYO in New Brunswick potato fields: Timing and vectors. *American Journal of Potato Research* 65, 639–649.
88. Boiteau G, Wood F (1982) Persistence of mineral oil spray deposits on potato leaves. *American Journal of Potato Research* 59, 55–63.
89. Boiteau G, Singh M, Lavoie J (2009) Crop border and mineral oil sprays used in combination as physical control methods of the aphid-transmitted potato virus Y in potato. *Pest Management Science* 65, 255–259.
90. Boukhris Bouhachem S, Rouze-Joua J, Souissi R, Glais L, Hulle M (2011) Transmission Efficiency of the strain PVYNTN by commonly captured aphids in tunisian potato fields. *Plant Pathology Journal* 10, 22–28.
91. Boukhris Bouhachem S, Khamassy N, Glais L, Kerlan C (2007) Occurrence in Tunisia of potato tuber necrotic ringspot disease (PTNRD) caused by variant PVYNTN of Potato virus Y. *New Disease Reports* 15, 5. 28
92. Broadbent L, Tinsley TW (1951) Experiments on the colonization of potato plants by apterous and by alatae aphids in relation to the spread of virus diseases. *Annals of Applied Biology*, 38, 411–424.
93. Broadbent L (1957) Insecticidal control of the spread of plant viruses. *Annual Review of Entomology* 2, 339-354.

94. Carroll MW, Radcliffe EB, MacRae IV, Ragsdale DW, Olson KD, Badibanga T (2009) Border treatment to reduce insecticide use in seed potato production. Biological, Economic, and Managerial Analysis. *American Journal of Potato Research* 86, 31–37.
95. Chan CK, Forbes AR, Raworth DA (1991) Aphid-transmitted viruses and their vectors of the world. *Agriculture Canada Technical Bulletin* 1991-3E. 1-216 pp.
96. Chikh Ali M, Karasev AV, Furutani N, Taniguchi M, Kano Y, Sato M, Natsuaki T, Maoka T (2013) Occurrence of Potato virus Y strain PVYNTN in foundation seed potatoes in Japan, and screening for symptoms in Japanese potato cultivars. *Plant Pathology* 62, 1157–1165.
97. K, Gellert A, Naray-Szabo G & Balazs E (2007) Modelling based characterisation of the elicitor function of amino acid 461 of cucumber mosaic virus 1a protein in the hypersensitive response. *Virology* 358, 109-118.
98. Sanfaçon, H. (2005). Replication of positive-strand RNA viruses in plants: Contact points between plant and virus components. *Canadian Journal of Botany* 83, 1529-1549.
99. Sanjuán R, Nebot MR, Chirico N, Mansky LM, Belshaw R, (2010) Viral mutation rates *Journal of Virology* 84, 9733–9748.
100. Saucke H & Doring TF (2004) Potato virus Y reduction by straw mulch in organic potatoes. *Annals of Applied Biology* 144, 347–355.
101. Schubert J, Formitcheva V & Sztangret-Wisniewska J (2007) Differentiation of Potato virus Y strains using improved sets of diagnostic PCR primers. *Journal of Virological Methods* 140, 66-74.

102. Shukla DD, Jilka J, Tosic I & Ford RE (1989) A novel approach to the serology of potyviruses involving affinity-purified polyclonal antibodies directed towards virus-specific N termini of coat proteins. *Journal of General Virology* 70, 13-23.
103. Shukla DD & Ward CW (1988) Amino acid sequence homology of coat proteins as a basis for identification and classification of the potyvirus group. *Journal of General Virology* 69, 2703-2710.
104. Shukla DD, Ward CW & Brunt AA (1994) Genome structure, variation and function. Pages 74-110 in: *The Potyviridae*. CAB Int., Wallingford, UK.
105. Sigvald R (1984) The relative efficiency of some aphid species as vectors of potato virus Y^o (PVY^o). *Potato Research* 27, 285-290.
106. Sigvald R (1985) Mature-plant resistance of potato plants against potato virus Y^o (PVY^o). *Potato Research* 28, 135-143.
107. Sigvald R (2008) Forecasting Potato virus Y using suction traps. *Potato Research* 51, 175-208.
108. Singh R.P., 1999. Development of the molecular methods for potato virus and viroid detection and prevention. *Genome* 42, 592-604.
109. Singh N, Kaur A, Shevkani & Ezekiel R (2013) Potato: Production, composition and starch processing. *Advances in food science and nutrition*, volume 2, chapter 2, Ed. Visakh PM, Iturriaga LB & Ribotta PD. John Wiley and Sons Inc. Hoboken, New Jersey, 23-48.
110. Hu X, Karasev AV, Brown CJ & Lorenzen JH (2009a) Sequence characteristics of potato virus Y recombinants. *Journal of General Virology* 90, 3033-3041.

111. Hu X, Meacham T, Ewing L, Gray SM & Karasev AV (2009b) A novel recombinant strain of Potato virus Y suggests a new viral genetic determinant of vein necrosis in tobacco. *Virus Research* 143, 68-76.
112. Hull R. (2009). *Comparative plant virology*. 2nd Edition. Academic Press, London (UK).
113. Hull R. (2002). *Matthews' Plant Virology*. 4th Edition. Academic Press, London (UK).
114. Hutton F, Kildea S, Griffin D, Spink J, Doherty G & Hunter A (2013) First report of potato tuber necrotic ringspot disease associated with PVY recombinant strains in Ireland. *New Disease Reports* 28, 12.
115. Jacquot E, Tribodet M, Croizata F, Balme-Sinibaldi V & Camille Kerlan (2005) A single nucleotide polymorphism-based technique for specific characterization of YO and YN isolates of Potato virus Y (PVY). *Journal of Virological Methods* 125, 83–93.
116. Kerlan C, Chrzanowska M, Glais L, Fremondiere G & Tribodet M (2001) Biological and molecular characterisation of Various PVYN-W isolates. *Proceedings from the 11th European Association of Potato Research (EAPR)*
117. Virology section meeting, Trest, Czech Republic. 1 – 3. Kerlan C, Nikolaeva OV, Hu X, Meacham T, Gray SM & Karasev AV (2011) Identification of the molecular make-up of the Potato virus Y strain PVY(Z): Genetic typing of PVY(Z)-NTN. *Phytopathology* 101, 1052-1060.
118. Kirchner SM, Doring TF, Hiltunen LH, Virtanen E & Valkonen JPT (2011) Information theory based model selection for determining the main vector and period of transmission of Potato virus Y. *Annals of Applied Biology* 159, 414-427

- 119.Kirchner SM, Hiltunen L, Döring TF, Virtanen E, Palohuhta JP, Valkonen JPT (2013) Seasonal Phenology and Species Composition of the Aphid Fauna in a Northern Crop Production Area. PLoS ONE 8, e71030.
- 120.Kogovsek P, Pompe-Novak M, Baebler S, Rotter A, Gow L, Gruden K, Foster GD, Boonham N & Ravnkar M (2010). Aggressive and mild Potato virus Y isolates trigger different specific responses in susceptible potato plants. Plant Pathology 59, 1121-1132.
- 121.Quenouille J, Montarry J, Palloix A, Moury B. 2013. Farther, slower, stronger: how the plant genetic background protects a major resistance gene from breakdown. Molecular Plant Pathology 14, 109–118.
- 122.Racman DS, McGeachy K Reavy B, Strukelj B, Zel J & Barker H (2001) Strong resistance to potato tuber necrotic ringspot disease in potato induced by transformation with coat protein gene sequences from an NTN isolate of Potato virus Y. Annals of Applied Biology 139, 269–275.
- 123.Radcliffe EB & Ragsdale DW (2002) Aphid-transmitted potato viruses: The importance of understanding vector biology. American Potato Journal 79, 353-3
- 124.Radcliffe EB & Lagnaoui A (2007) Insect pests in potato. In Potato Biology and Biotechnology, advances and perspectives. Ed. Vreugdenhil D. 543-562. Elsevier, Oxford, UK.
- 125.Ragsdale DW, Radcliffe EB & DiFonzo CD (2001) Epidemiology and field control of PVY and PLRV. In Virus and Virus-like Diseases Potatoes and Production of Seed-potatoes, Loebenstein G, Berger PH, Brunt A & Lawson RH eds. (Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers), 237–270.

- 126.Rahman MS & Akanda AM (2008) Effect of PVY infected seed tuber on disease incidence, plant growth and yield parameters of potato. Bangladesh Research Publications Journal 1, 125-135.
- 127.Revers F, Le Gall O, Candress T, Le Romancer M & Dunez J (1996) Frequent occurrence of recombinant potyvirus isolates. Journal of General Virology 77, 1953-1965.
- 128.Riechmann JL, Laín S & García JA (1992) Highlights and prospects of potyvirus molecular biology. Journal of General Virology 73, 1–16. Rigotti S, Balmelli C & Gugerli P (2011) Census report of the Potato Virus Y (PVY) population in Swiss seed potato production in 2003 and 2008. Potato Research 45, 105-117.
- 129.Robert Y, Woodford JAT & Ducray-Bourdin DG (2000) Some epidemiological approaches to the control of aphid-borne virus diseases in seed potato crops in northern Europe. Virus Research 71, 33-47.
- 130.Rohozkova, J & Navratil, M (2011) P1 peptidase - a mysterious protein of family Potyviridae. Journal of Biosciences 36, 189 – 200.
- 131.Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M & Kumar S (2011) MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution 28, 2731-2739.
- 132.Taylor LR (1951) An improved suction trap for insects. Annals of Applied Biology 38, 582-591.
- 133.Thole V, Dalmay T, Burgyan J & Balazs E (1993) Cloning and sequencing of potato virus Y (Hungarian isolate) genomic RNA. Gene 123, 149-156.

134. Tribodet M, Glais L, Kerlan C & Jaquot E (2005) Characterization of Potato virus Y (PVY) molecular determinants involved in the vein necrosis symptom induced by PVYN isolates in infected *Nicotiana tabacum* cv. Xanthi. *Journal of General Virology* 86, 2101-2105
135. Whitworth JL, Hamm PB & Nolte P (2012) Distribution of Potato virus Y Strains in Tubers during the post-harvest period. *American Journal of Potato Research* 89, 136-141.
136. Wratten SD, Gurr GM, Tylianakis JM & Robinson KA (2007). Cultural control. In *Aphids as crop pests*. Chapter 16, p. 423-439. Eds HF van Emden, R. Harrington. CABI, UK.
137. Yin Z, Chrzanowska M., Michalak K., Zagórska H & Zimnoch-Guzowska E (2012) Recombinants of PVY strains predominate among isolates from potato crop in Poland. *Journal of Plant Protection Research* 52, 214.
138. DeBokx JA & Piron PGM (1990) Relative efficiency of a number of aphid species in the transmission of potato virus YN in the Netherlands. *Netherlands Journal of Plant Pathology* 96, 237-246.
139. Derron JO & Goy G (1990) Relative importance of alate aphids frequently encountered on potatoes as vectors of potato virus Y (PVYN), taking their mobility into account. *Revue Suisse d'Agriculture* 22(5): 277–281.
140. DiFonzo CD, Ragsdale DW, Radcliffe EB, Gudmestad NC & Secor GA (1996) Crop borders reduce potato virus Y incidence in seed potato. *Annals of Applied Biology* 129, 289–302.
141. Dolnicar P, Plesko IM & Meglic V (2011) Long-term storage suppress the development of tuber necrosis caused by PTNRD. *American Journal of Potato Research* 88, 318-323.

142. Dolničar P (2001) Monitoring of PVY strains in Slovenia. Proceedings from the 11th European Association of Potato Research (EAPR) Virology section meeting, Trencin, Czech Republic. 15 – 17
143. Döring TF (2011) Potential and Limitations of Plant Virus Epidemiology: Lessons from the Potato virus Y Pathosystem. *Potato Research* 54, 341-354.
144. Draper MD, Pasche JS, Gudmestad NC (2002) Factors influencing PVY development and disease expression in three potato cultivars. *American Journal of Potato Research* 79, 155–165.
145. Dulleman AM, Cuperus C, Verbeek M & Vlugt RAA van der (2011) Complete nucleotide sequence of a potato isolate of strain group C of Potato virus Y from 1938. *Archives of Virology* 156, 473-477
146. Edwardson JR & Christie RG (1997) Viruses infecting peppers and other Solanaceous crops. Vol. 1. Monograph 18–1, University of Florida Agricultural Experiment Station.
147. Ellis P, Stace-Smith R, Bowler G & Mackenzie DJ (1996) Production of monoclonal antibodies for detection and identification of strains of potato virus Y, *Canadian Journal of Plant Pathology* 18, 64-70.
148. Faure F, Baldwin T, Tribodet M & Jacquot E (2012) Identification of new Potato virus Y (PVY) molecular determinants for the induction of vein necrosis in tobacco. *Molecular Plant Pathology* 13, 948–959.
149. Martín-López B, Varela I, Marnotes S, Cabaleiro C (2006) Use of oils combined with low doses of insecticide for the control of *Myzus persicae* and PVY epidemics. *Pest Management Science* 62, 372–378.
150. Moericke V (1950) Über das Farbsehen der Pfirsichblattlaus (*Myzodes persicae* Sulz.). *Zeitschrift für Tierpsychologie* 7, 265–274.

151. Moericke V (1955) Über die Lebensgewohnheiten der geflügelten Blattläuse (Aphidina) unter besonderer Berücksichtigung des Verhaltens beim Landen. Zeitschrift für Angewandte Entomologie. 37, 29–91.
152. Moericke V (1962) Über die optische Orientierung von Blattläusen. Zeitschrift für Angewandte Entomologie 50, 70–74.
153. Moericke V (1969) Hostplant specific colour behaviour by *Hyalopterus pruni* (Aphididae). Entomologia Experimentalis et Applicata 12, 524–534.
154. Nemecek T, Schwärzel R, Derron JO (1995) Quels facteurs d'eterminent l'infection virale des pommes de terre? Une analyse de syst `eme de la production de plants. Revue suisse d'agriculture 27, 73–77.
155. Ng JCK, Perry KL (2004) Transmission of plant viruses by aphid vectors. Molecular Plant Pathology 5, 505–511.
156. Nieminen M, Leskinen M, Helenius J (2000) Doppler radar detection of exceptional mass-migration of aphids into Finland. International Journal of Biometeorology 44, 172
157. Pelletier Y, Nie X, Giguère MA, Nanayakkara U, Maw E, Foottit R (2012) A new approach for the identification of aphid vectors (Hemiptera: Aphididae) of Potato virus Y. Journal of Economic Entomology 105, 1909–1914.
158. Perring TM, Gruenhagen NM, Farrar CA (1999) Management of plant viral diseases through chemical control of insect vectors. Annual Review of Entomology 44, 457–481.
159. Pieper JJ, Burlison WL, Flint WP (1930) Growing potatoes in Illinois. Bulletin of University of Illinois Agricultural Experiment Station 344, 243–283.
160. Potts MJ, Gunadi N (1991) The influence of intercropping with *Allium* on some insect populations in potato (*Solanum tuberosum*). Annals of Applied Biology 119, 207–213

დანართი

კარტოფილის ჯიშების დახასიათება

ცხრილი #13

ჯიში	აღწერილობა	მოსავლიანობა	(ფიზიკური სახე)	რეზისტენტულობა ვირუსების მიმართ		
				PVY	PLRV	PVX
კოლეტე	ულტრა საადრეო, გერმანული	მოსავლიანობა	მოგრძო, ოვალური, გლუვი ღია ყვითელი ტუბერით ოდნავ ბადისებრი კანით.	+	+	+
პიკასო	საშუალოდ საგვიანო	მაღალმოსავლ იანი	ტუბერი მოგრძო ოვალური ფორმით, მოწითალო ლაქებით	+	+	+
კლარისა	საშუალო სავეგეტაციო პერიოდით	მაღალმოსავლ იანი	ტუბერი მოგრძო, ოვალური, გლუვი კანით, რბილობი მოყვითალო შეფერვის	+	+	+
ნეესკი	ულტრა საადრეო	45- ტონა	რბილობი აქვს თეთრი.	+	+	+
მარაბელი	გერმანული სელექციის საშუალო საგვიანო.	35-40ტონა	ტუბერი ოვალური მძიმე კანი ღია და ყვითელი.	+	+	+
სოლარა	საშუალო საადრეო	მაღალმოსავლ იანი	გლუვი, მოთეთრო- მოყვითალო	+	+	+
მარფონა	ჰოლანდიურ ი სელექციის საშუალოდ საადრეო.	მაღალმოსავლ იანი	ოვალური, ღია ყვითელი, გლუვი ოდნავ ბადისებრი.	+	+	+

იმპალია	ჰოლანდიური, ი, საშუალო საგვიანო.	მაღალმოსავლ იანი	მოთეთრო, ოვალური,მოყვითალო.	+	+	+
აგრია	გერმანული, საგვიანო სავეგეტაციო პერიოდი 111 დღე.	მაღალმოსავლ იანი	მოგრძო, ოვალური მოთეთრო-ყვითელი.	+	+	+
ფელისიტას ი	გერმანული, საგვიანო სავეგეტაციო პერიოდი 101-110 დღე.	მაღალმოსავლ იანი	თეთრი ლამაზი, ოვალური, მოვარდისფრო.	+	+	+
ველოქსი	საადრეო	მაღალმოსავლ იანი	თითქმის არ ყვავილობს,	+	+	+
იმპალა	საადრეო ჯიში	მოთეთრო- მოყვითალო ფერი.	თეთრი ყვავილით, თითქმის არ ყვავილობს.	+	+	+
ალვარა	საშუალო სავეგეტაციო პერიოდით,	მაღალმოსავლ იანი	იისფერი ყვავილით.	+	+	+