ა(ა)იპ საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ტბელ აბუსერისძის

სახელობის სასწავლო უნივერსიტეტი.

აგრარულ მეცნიერებათა და ბიზნესის ადმინისტრირების ფაკულტეტი.

დუმბაძე მარიამ

გოჯიბერის გამრავლების მორფოგენეტიკური თავისებურებანი in-vitro კულტურაში.

სამაგისტრო ნაშრომი შესრულებულია აგრარულ მეცნიერებათა მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად.

მეცნიერ ხელმძღვანელი: ბსუ-ს ასისტენტ-პროფესორი ნარგიზ ალასანია

ხიჭაური

2021

ანოტაცია

თანამედროვე ექსპერიმენტულ ბიოლოგიაში წარმატებით გამოიყენება უჯრედის, ქსოვილისა და ორგანოს კულტურის in-vitro მეთოდი. მეთოდის აქტუალობა მდგომარეობს - მცენარეთა ფიზიოლოგიაში, გენეტიკაში, მოლეკულურ ბიოლოგიასა და ბიოქიმიაში მრავალი ფუნდამენტალური საკითხების შესწავლის, გადაჭრის და რეგულირების პროცესების უშუალო მონაწილეობაში. გამიზნულია აგრეთვე სასოფლო სამეურნეო კულტურების არსებული ჯიშების გაუმჯობესებასა და ახალის შექმნისკენ.

აღნიშნული მეთოდი ფართოდ გამოიყენება ისეთ ძვირფას მცენარეთა გენეტიკურ სელექციურ სამუშაოებში, როგორიცაა სამკურნალო და სამკურნალწამლო ფორმების მიღება. ასეთ მცენარეთა რიცხვს განეკუთვნება პასიფლორა (ვნების ყვავილი) passflora incarnatae. In-vitro სისტემაში ეს მცენარე პრაქტიკულად ნაკლებადაა შესწავლილი. ამიტომ, ყველაზე რთულ პრობლემას მცენარის მორფოგენეზის შესწავლაში in-vitro სისტემაში წარმოადგენს: ასეპტიკური კულტურის მიღება, კულტივირებული ქსოვილებიდან ორგანოგენეზის ერთ-ერთი გზის გამოწვევა და ამ პროცესის ჰორმონალური რეგულირება; გაუმჯობესებული ნიშნებით ახალი ფორმების მიღება და ა.შ.

In vitro - ში მცენარეთა თავისუფალი გენეტიკური მანიპულირება დაკავშირებულია სირთულეებთან და თავისებურებებთან; პოპულაციაში, არაორგანიზებულად მზარდ უჯრედებში ფორმათწარმომქმნელი პროცესების ძლიერი და სუსტი უნარი, უჯრედთა ორგანოგენეზში შესვლის ასინქრონული დასაწყისი და უჯრედების ეპიგენეტიკური მდგომარეობა, რომელიც დამოკიდებულია ქსოვილის ხასიათზე, რომელთაგანაც მიღებულ იქნა კულტივირტებადი უჯრედები. კონკრეტულად კულტივირებადი უჯრედის კომპეტენტურობაა, მიიღოს სიგნალი განვითარების პროგრამის გარდასაქმნელად და უპასუხოს მას.

Annotation

In-vitro method of cell, tissue and body culture is successfully used in modern experimental biology. The actuality of the method lies in direct participation of studding the fundamental issues in physiology, genetics, molecular biology and biochemistry of the plant. It is also aimed to the development of existing agricultural breeds and creation of new ones.

this metod is widely used in the genetic selection of valuable plants such as medical and forms. Such plans include the passion flower (passion flower) passflora incarnatae. In the in-vitro system this plant is practically less studied. Therefore, the most difficult problem in the study of plant morphogenesis in the in-vitro system is : obtaining aseptic culture, challenging one of the pathways of organogenesis from cultured tissues, and hormonal regulation of this process; Getting new shapes with improved marks, etc.

In vitro free genetic manipulation of plants is associated with complexities and paculiarities; In the population, the strong and weak abilityof from-forming processes in unorganized growing cells, the asynchronous onset of cells entry into organogenesis, and the epigenetic state of cells were obtained. The competence of a specifically cultured cell is to receive a signal to transform the development program and respond to it.

სარჩევი

1. შესავალი ---------- 4 გვ
2. ქსოვილური კულტურების გამოყენება მემცენარეობაში ---------- 5 გვ
3. მცენარეთა მორფოგენეზის თავისებურებანი In vitro კულტურაში ---------- 8 გვ
4. მცენარეთა მიკროკლონარული გამრავლება ---------- 10 გვ
5. კალუსური ქსოვილის კულტურა და მცენარეთა რეგენერაცია ---------- 18 გვ
6. კვლევის მასალა და მეთოდიკა ---------- 22 გვ
7. სტერილიზაციის მეთოდები ---------- 24 გვ
8. ექსპლანტის ტიპები ---------- 27გვ
9. საკვები არეების შემადგენლობა და მომზადება ---------- 29 გვ
10. კულტივირების პერიოდები და მცენარე რეგენერანტების აკლიმატიზაცია ---------- 33 გვ
11. გოჯიბერის მცენარე - რეგენერანტთა აკლიმატიზაცია ---------- 37 გვ
12. კვლევის მიზანი ---------- 40 გვ
13. შედეგები ---------- 44 გვ
14. გამოყენებული ლიტერატურა ---------- 46 გვ

შესავალი

თანამედროვე ექსპერიმენტულ ბიოლოგიაში წარმატებით გამოიყენება უჯრედის, ქსოვილისა და ორგანოს კულტურის in-vitro მეთოდი. მეთოდის აქტუალობა მდგომარეობს - მცენარეთა ფიზიოლოგიაში, გენეტიკაში, მოლეკულურ ბიოლოგიასა და ბიოქიმიაში. მრავალი ფუნდამენტალური საკითხების შესწავლის, გადაჭრის და რეგულირების პროცესებში უშუალო მონაწილეობა. გამიზნულია აგრეთვე სასოფლო-სამეურნეო კულტურების არსებული ჯიშების გაუმჯობესებისა და ახალის შექმნისაკენ.

მცენარის უჯრედული ტექნოლოგია, როგორც გამრავლების არატრადიციული მეთოდი, გამრავლების მაღალ კოეფიციენტთან ერთად გვაძლევს მორფოგენეტიკური პროცესების მოდელირების, რეალიზაციისა და კონტროლის საშუალებებს; იშვიათი გენეტიკური ფორმების გამრავლების, სომაკლონალური ვარიანტების მიღებისა და მცენარე რეგენერანტებს შორის კულტივირების პროცესში აღმოცენებული ცვალებადობის შესწავლას, ხანგრძლივად კულტურაში შენახვის გამო უზრუნველყოფს ძვირფას ელიტურ მცენარეთა ,,ბანკის“-ა და ,,გენოფონდის“ შექმნას.

აღნიშნული მეთოდი ფართოდ გამოიყენება ისეთ ძვირფას მცენარეთა გენეტიკურ სელექციურ სამუშაოებში, როგორიცაა სამკურნალო და სამკურნალწამლო ფორმების მიღება. ასეთ მცენარეთა რიცხვს განეკუთვნება პასიფლორა (ვნების ყვავილი) passflora incarnatae. In-vitro სისტემაში ეს მცენარე პრაქტიკულად ნაკლებადაა შესწავლილი. ამიტომ, ყველაზე რთულ პრობლემას მცენარის მორფოგენეზის შესწავლაში in-vitro სისტემაში წარმოადგენს: ასეპტიკური კულტურის მიღება, კულტივირებული ქსოვილებიდან ორგანოგენეზის ერთ-ერთი გზის გამოწვევა და ამ პროცესის ჰორმონალური რეგულირება; გაუმჯობესებული ნიშნებით ახალი ფორმების მიღება და ა.შ.

ამ პრობლემების გადაჭრას კონკრეტულად აღნიშნული მცენარისთვის აქვს ძალიან დიდი პრაქტიკულ-თეორიული მნიშვნელობა, როგორც გენეტიკოს-სელექციონერებისათვის, ასევე ფარმაცევტული მრეწველობის მუშაკთათვის.

ქსოვილის კულტურის გამოყენების შესაძლებლობები მემცენარეობაში

მცენარის ქსოვილის კულტურა ბიოლოგიის დარგია, რომელიც შეისწავლის მცენარისაგან იზოლირებული უჯრედის ქსოვილის და ორგანოს განვითარებას ხელოვნურ საკვებ არეზე in-vitro კულტურაში ტერმინი ,, ქსოვილის კულტურა" აერთიანებს in-vitro ტექნოლოგიის მეთოდებს განზოგადებული გაგებით.

მცენარეთა ,,უჯრედის, ქსოვილისა და ორგანოს კულტურა", ანუ ,,უჯრედული ტექნოლოგია" ბიოლოგიის ახალგაზრდა და სწრაფი განვითარებადი მიმართულებაა, რომელიც ლაბორატორიული მეთოდებიდან მეცნიერების ჭეშმარიტ დარგად გარდაიქმნა და მას სამართლიანად შეიძლება ვუწოდოთ ,,მზარდი უჯრედის" ბიოლოგია, მიკრობიოლოგიური ტექნიკით მცენარეთა გამოზრდისა და უჯრედთა კლონირების მეთოდების შეხამება მცენარის უჯრედიდან მთლიანი მცენარის რეგენერაციისა და მორფოგენეზის უნარის ექსპერიმენტულად რეალიზაციის შესაძლებლობასთან, ფართო პერსპექტივებს სახავს ,,ქსოვილის კულტურის" ცალკე მიმართულების ჩამოყალიბების საქმეში.

ყველა კულტურულ მცენარეს აქვს რიგი შესაძლებლობანი,რომელთა, რეალიზება შეიძლება სელექციურ პროცესებში in-vitro ტექნიკის გამოყენებით. ქსოვილის კულტურის თავისებურებებიდან გამომდინარე, მემცენარეობაში ქსოვილის კულტურის გამოყენებას ყოფენ ამოცანათა სამ კომპლექსად:

- გენეტიკური ბაზის გაფართოება, მცენარეთა სელექციაში ახალი, პირველადი მასალის მისაღებად;
- ძვირფასი ელიტური მცენარეების და მათი ხაზების შენახვა-გამრავლება;
- მებაღეობისა და სხვა სასოფლო-სამეურნეო კულტურების უვირუსო, მიკრობისაგან თავისუფალი სარგავი მასალის მიღება და მათი ჯანსაღად შენახვა.

კულტურულ მცენარეთა გენეტიკურ საფუძველზე დაყრდნობით, მნიშვნელოვნადაა შესაძლებელი სახეობათა შორისი და ჯიშთა შორისი ჰიბრიდების მიღება (collienetal 1984 raghavan1985),
პროგრამული შეუთავსებლობა შეიძლება გადალახული იქნეს in vitro სინჯარაში განაყოფიერებით. ამ მიზნით ქსოვილის კულტურაში ახორციელებენ ნასკვის, ან თესლკვირტის კულტივირებას. მაგ: პლაცენტარული დამტვერვის მეთოდით მიღებულია ბამბის სახეობათაშორისი ჰიბრიდები (morozova 1984, refael et al 1984),

თვითდამტვერვის გზით მიღებულია მცენარეები Brassiccampestris და brassica napys (zenkteler et al 1987), in-vitro კულტურაში ყურძნის უთესლო კლონთაშორისი ჰიბრიდები (harsa et al 1996) ემბრიოკულტურის მეთოდით მიღება სახეობათაშორისი და ჯიშთაშორისი ჰიბრიდები (plotkinova 1984, zhong 1995). ჩანასახის კულტურის გამოყენებით განვითარების ადრეულ სტადიაზე, შესაძლებელი გახდა დაძლეულიყო სახეობათაშორისი ჰიბრიდები ჩანასახის კულტურაში დროის სხვადასხვა ინტერვალში დამტვერიანების გზით, რომელიც ავტორთა აზრით, პერსპექტიულია სელექციაში დაავადებების მიმართ გამძლეობის გამო (venkate warlu etal 1984)

უკანასკნელ წლებში შემუშავდა სინჯარაში განაყოფიერების მეთოდი, რომელიც საინტერესო მოვლენაა სელექციონერებისა და გენეტიკოსებისათვის. მეცნიერები, რომლებიც მუშაობენ სხვადასხვა კულტურებზე, აწყდებიან ისეთ პრობლემებს როგორიცაა სამტვერე მილის სიგრძის შეუთავსებლობა ბუტკოს სვეტთან, აგრეთვე შეიძლება მტვრის მარცვალი არ ჩაიზარდოს ბუტკოს სვეტის დინგში. სწორედ ასეთი სირთულეების გადალახვა შეუძლია in vitro განაყოფიერების მეთოდს. ეს მეთოდი შეიმუშავა ინდოელმა მეცნიერმა მახეშავრმა (1958). ექსპერიმენტს ატარებდა ყაყაჩოზე. მეთოდი მდგომარეობდა შემდეგში: ბუტონების გაშლამდე ერთი დღით ადრე, ჯვარედინი ან თვითდამტვერიანებულ მცენარეებს ჭრიან, ასტერილებენ და ამის შემდეგ ახდენენ მათ კასტრაციას, კერძოდ ამოკვეთავენ მთლიანად ბუტკოს ან მხოლოდ ნასკვს, რომელსაც ჩამოათლიან თხლად იმ კიდეს სადაც თესლ კვირტია მოთავსებული და გადააქვთ ხელოვნურ საკვებ არეზე. მე-2-3 დღეს იმავე საკვებზე შეაქვთ გასტერილებული მტვრიანები. მტვრიანა ჩაიზრდება სამტვრე მილით ჩანასახოვან პარკში. განაყოფიერების შემდეგ თესლკვირტი იზრდება მოცულობაში და ჩანასახის განვითარების პროცესი ნორმით მიმდინარეობს. თესლები მწიფდება განაყოფიერებიდან ერთი კვირის შემდეგ და იმავე კოლბაში შეუძლიათ განივითარონ ჩანასახოვანი ორგანოები. ეს მეთოდი იძენს უფრო მეტ პოპულარობას და გამოიყენება ბევრ ეკონომიკურ და სამრეწველო მნიშვნელოვან კულტურებზე, მაგრამ სამწუხაროდ ახალი მეთოდების უმრავლესობა მხოლოდ სამეცნიერო ლაბორატორიებს ფარგლებშია და სელექციური დაწესებულებები ჯერჯერობით ფართოდ ვერ იყენებენ.

უკანასკნელ პერიოდში მნიშვნელოვანი შედეგები იქნა მიღწეული მზარდ უჯრედთა კულტურაში პროლიფერაციის დროს პოტენციური უნარის გამოსავლენად მივიღოთ გენეტიკური ვარიაბილობა როგორც უჯრედის, ასევე კოლონების დონეზე. გენეტიკური მრავალფეროვნების მიზეზს კულტივირებულ ქსოვილებში წარმოადგენს მიტოზის სხვადასხვა ანომალიები, რომლებიც კულტივირების პროცესში აღმოცენდება (butenko 1979). გენეტიკური შეიძლება გამოწვეული იყოს ქსოვილებში ჰორმონალური ბალანსის დარღვევით, რაც იწვევს უჯრედული ციკლის დარღვევას და მიიღება უჯრედები განსხვავებული ქრომოსომული რიცხვით. ჰორმონები იწვევენ გენთა

სპექტრის ისეთ ცვლილებებს, რომელიც განაპირობებს გენთა აქტივობის შეცვლას, რასაც ახლავს უჯრედის ფუნქციის შეცვლა და ორგანოგენეზის ინდუქცია. სომატური უჯრედისაგან რეგენერირებულ მცენარეს ეწოდება ,,სომაკლონი", ხოლო მასში წარმოქმნილ ცვალებადობას ,,სომაკლონალური ცვალებადობა" (larkin et al 1981). შეისწავლეს რბილი ხორბლის 2846 რეგენერანტი, რომელთაგან 142 რეგენერანტს აღენიშნა ფართო ცვალებადობა მორფოლოგიური და ბიოქიმიური ნიშნების მიხედვით. ნიშან-თვისებათა ასეთი დათიშვის ხასიათმა საფუძველი მოგვცა ვივარაუდოთ, რომ კალუსურ ქსოვილში წარმოიშვა სპონტანური მუტაცია (larkun 1984).

უჯრედის კულტურის მეთოდით სელექციაში მიღებულია ყინვაგამძლე სათიბი კოინდარის რეგენერანტები.ქიმიური ნივთიერებების მიმართ გამძლე იონკას ხაზები (sol1983).

პროტოპლასტების კულტურა საშუალებას იძლევა სომატური ჰიბრიდიზაციის განხორციელებისა ისეთ ფორმებს შორის, რომელნიც ხასიათდებიან ცალკეულად სასარგებლო ნიშნებით და სასურველია მათი თავმოყრა ერთ ორგანიზმში. ამ მხრივ მართლაც კოლოსალური შედეგია მიღებული (wang et al 1995, lenrner et al 1995, kunikake et al 1995, kihara, funatsutki 1995, wang et al 1995, chand 1995, lain et al 1995). განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია პროტოპლასტების გამოყოფის, კულტივირების და შერწყმის მეთოდების დამუშავება-გამოყენება სამკურნალო მცენარეებისათვის, მაგრამ ამ მხრივ სამუშაოები ნაკლებადაა შესრულებული.

ქსოვილთა კულტურა უდიდეს როლს ასრულებს გენეტიკურად იდენტური მცენარეების მიღების საქმეში. ამ მიზნით გამოიყენება უჯრედული ტექნოლოგიის ერთ-ერთი მეთოდი, რომელსაც მიკროკლონარული გამრავლება ეწოდება. ამ მიზნით ექსპლანტის სახით გამოიყენება ყლორტის აპიკალური ნაწილები და იღლიური კვირტები მერისმეტული ქსოვილით, რომელთაც აქვთ მზარდ ყლორტებად გადაქცევის უნარი (berger 1995, zhang et al 1996). ამ მეთოდით სწრაფად მრავლდება, ბალახოვანი, ასევე ხე-მცენარეები (gebhardt 1995, chai et al 1995). იღლიური დატოტიანების ინდუქციით ამრავლებენ ვარდებს (voyat et al 1995).

იღლიური და მძინარე კვირტების კულტურის მეთოდით ამრავლებენ წიწვოვნებს (bhardt 1995). ფოთლოვან (luo jian-xun 1995), კურკოვან და ნაყოფიან (goh et al 1995) ხე მცენარეებს. ხე-მცენარეების ამ მეთოდით მიღებული მცენარე-რეგენერანტები ფესვიანდება შესანიშნავად და როგორც სარგავი მასალა შეფასებულია საუკეთესოდ.

იმ ნიშან-თვისების შენარჩუნებათა რიგში, რომლებსაც მიეკუთვნება მცენარეთა მერისტერმული კულტურით გამრავლების მეთოდები და რომელიც უზრუნველყოფს გამრავლების მაღალ კოეფიციენტს, შესაძლებლობას იძლევა მივიღოთ ვირუსული, სოკოვანი და ბაქტერიული ინფექციებისაგან თავისუფალი ძვირფასი სარგავი მასალა (langhans et al 1947).

ამრიგად ,,ქსოვილის კულტურის მეთოდი“ პერსპექტიულია გენეტიკური ბაზისის გაფართოებისათვის და მცენარეთა სელექციური სამუშაოებისთვის, მნიშვნელოვანი ელიტური ფორმების და ჰიბრიდების გამრავლებისა და შენახვისათვის აგრეთვე უვირუსო მინდვრის, ბაღეული და ბახჩეული, ხეხილოვანი და სამკურნალო მცენარეების მისაღებად. წარმატებით გამოიყენება ხელოვნური განაყოფიერების, ჩანასახის კულტურის, თესლკვირტის კულტურის, მათი შერწყმისა და კულტივირების მეთოდები მცენარე - კლონების მასიური რაოდენობით მიღების საქმეში. ზემოთ აღნიშნული ყველა პროცესის კონტროლი ხორციელდება ხელოვნური საკვების კომპონენტებითა და ჰორმონალური ფაქტორების რეგულაციით.

მცენარეთა მორფოგენეზის თავისებურებანი In vitro კულტურაში

მცენარეთა ფიზიოლოგიასა და გენეტიკაში ორგანიზმში მიმდინარე მორფოგენეტიკური პროცესების შესასწავლად ფართოდ გასმოიყენება ქსოვილის, უჯრედისა და პროტოპლასტის კულტურები. განსაკუთრებული ინტერესი in vitro-სადმი კი გამოწვეულია მრავალმხრივი მორფოგენეტიკური პროცესების მოდელირების განხორციელებითა და პირველად სტანდარტულ პროცესებზე კონტროლის გათვალისწინების.

სკუგმა, ინდუცირებული მორფოგენეზის პრობლემა ჩამოაყალიბა შემდეგნაირად: „რაოდენობრივი თანაფარდობა აუქსინებსა და ციტოკინინებს შორის, არეგულირებს ყველა ტიპის რეგულაციის მექანიზმს დაწყებული უჯრედის ზრდიდან დამთავრებული ორგანოთა ფორმირებამდე“ (skoog, 1957). ეს ჰიპოთეზა დაამტკიცეს შემდგომში აღმოჩენილმა ბუნებრივმა და სინთეზურად მიღებულმა რეგულატორებმა, მათი მოქმედების მექანიზმის შესწავლით სხვადასხვა მორფოგენეტიკურ პროცესებზე in vitro კულტურაში (skoog, Armstrong 1970, mooz 1979).

In vitro კულტურის მორფოგენეზის შესახებ არსებობს ორი განსხვავებული მოსაზრება. პირველს წარმოადგენს უჯრედის აუცილებელი იზოლირება მთლიანი ორგანიზმის სტრუქტურის გავლენისაგან. ამ შემთხვევაში ძირითადს და უჯრედის ემბრიონალური ან ორგანიზებული განვითარებისათვის აუცილებელს წარმოადგენს მეზობელი უჯრედის გავლენის უგულებელყოფა, რაც თავისთავად განსაზღვრავს სომატური ემბრიოგენეზის და ორგანოგენესის რეგულაციის გზას (stevard et al 1958, 1973 halpering 1966, fones et al 1970, hari 1980).

მეორე მოსაზრების თანახმად, უჯრედის გდასვლა ორგანიზებული განვითარებისაკენ, ფიტოჰორმონების რაოდენობრივი თანაფარდობის ცვალებადობის შედეგია (skoog, 1971).

ტორის ჰიპოთეზის თანახმად, კალუსური კულტურის მორფოგენეზი დამოკიდებულია მერისტემული უჯრედის გამოჩენაზე (მერისტემოდები). კულტივირების პირობების გავლენით ისინი წარმოქმნიან ორგანოთა ჩანასახებს (horrey 1966). მიუხედავად იმისა, რომ ინდუცირების მერისტემული ზონა ჯერაც უცნობია.

შემდგომმა გამოკვლევებმა საშუალება მოგვცეს გამოვყოთ მორფოგენეზის შემდგომი გზები: მაგალითად, ბატიგინი და სხვა ავტორები (1978) გამოყოფენ მორფოგენეზის შემდეგ სახეებს: 1) ემბრიოგენეზი; 2) ემბრიოიდოგენეზი; 3) ორგანოგენეზი, რომელიც თავისთავად იყოფა: ჰემოგენეზადა (ვეგეტატიური და რეპროდიუქტიული) და რიზოგენეზადა; 4) ჰისტოგენეზი.

ზოგიერთი სხვა ავტორი თვლის რომ მცენარეულ უჯრედს აქვს უნარი მოგვცეს მთლიანი მცენარე - ყლორტებისა და ფესვის განვითარებით, რომელიც იმეორებს ჩანასახის განვითარებას (haszhy, 1975; damato 1977; linacero et al 1986; stoehz , zsufta 1990;).

ნ.მაისევის (1991) მონაცემების თანახმად ფოთლების ექსპლანტის კულტურაში შეყვანით შეიძლება გამოვიწვიოთ რამდენიმე მორფოგენეტიკური პროცესი: ღეროსმიერი მორფოგენეზი, ფესვის მორფოგენეზი და კალუსოგენეზი.

მორფოგენეზის ყოველი ტიპი კონტროლირდება სკუგისა და მილერის ჰორმონალური რეგულაციის თეორიით (skoog, miller 1957; skoog 1971).

რ.გ. ბუტენკო (1975 თვლის, რომ უჯრედულ კულტურაში რეალიზდება სომატური ემბრიოგენეზი, ორგანოგენეზი, ფლორალური მორფოგენეზი და ჰისტოლოგიური დიფერენცირება.

უჯრედული და ქსოვილური კულტურის მორფოგენეზის შესწავლისას, მეტად მნიშვნელოვანია განვითარების პროცესის გენეტიკური დეტერმინირება. რ.გ. ბუტენკო და სხვა ავტორები მორფოგენეზს განიხილავენ, როგორც გენეტიკური ინფორმაციის რეპრესიის და დერეპრესიის საფუძველზე მიმდინარე განვითარების პროცესს. In vitro მორფოგენეზის პროცესის განვითარების გენეტიკური ანალიზი მიიჩნევს, რომ მთავარი მამოძრავებელი ძალა - გენების აქტივობაა. მორფოგენეზის ყოველი ეტაპი კონტროლირდება განსაზღვრული გენეტიკური სისტემით ა.ი. ივანოვას მიაჩნია, რომ განვითარება არის შემდეგი ერთობლივი, ან ორი: პირველადი და მეორადი გენეტიკური სისტემის მონაცვლეობითი აქტივობისა. პირველადი სისტემის ქვეშ იგულისხმება განვითარებადი სისტემის გადასვლა ერთი მდგომარეობიდან მეორეში, ხოლო მეორად გენეტიკურ რეგულაციაში იგულისხმება სისტემის უნარი, მიაღწიოს გარკვეულ საბოლოო მდგომარეობას ავტორებულარულად (ivanov 1987)

მცენარეთა მიკროკლონარული გამრავლება

1949 წელს ლი ასსემ და კორმიუემ აღმოაჩინეს, რომ მცენარის მერისტემული უჯრედები ხშირად არ შეიცავენ ვირუსებს. 1952 წელს ეს ფაქტი გამოიყენეს რა მორელმა და მარტინმა, გადაწყვიტეს მერისტემული უჯრედებით in vitro კულტურის მიღება. შემდეგში ექსპერიმენტებმა ნათელჰყო რომ ეს მეთოდი შეიძლება წარმატებით იქნას გამოყენებული ნებისმიერი მცენარის- ეს იქნება ძვირფასი ეკონომიკურ-სამრეწველო, სასოფლო-სამეურნეო თუ ელიტური, ძნელად მრავლებადი კულტურების მასიური რაოდენობის მისაღებად.

ხე-ბუჩქოვან, თუ ბალახოვან მცენარეებს ტრადიციულად ამრავლებენ თესლით. მაგრამ ძალიან ხშირად მიმართავენ ვეგეტატიურ გამრავლებასაც, რომელიც წარმოადგენს საკმაოდ შრომატევად პროცესს და საჭიროებს დროის დიდ დანახარჯს. ამათთან შედარებით, პრაქტიკული თვალსაზრისით იზოლირებულ ქსოვილთა კულტურების მეთოდების თვალსაჩინო უპირატესობებს მცენარეთა გამრავლებაში წარმოადგენს შემდეგი:

- ვირუსების, სოკოებისა და ნემატოდებისაგან თავისუფალი, გაჯანსაღებული მასალის მიღების შესაძლებლობა;
- მცენარის ძვირფასი კლონის სწრაფად გამრავლების შესაძლებლობა;
- ჩვეულებრივ პირობებში, ძნელად გამრავლებადი მცენარეების ვეგეტატიური შთამომავლობის დიდი რაოდენობით მიღების შესაძლებლობა;
- მთელი წლის განმავლობაში ლაბორატორიულ პირობებში მუშაობის და განსაზღვრული დროისათვის მცენარეების გამოშვების დაგეგმვის შესაძლებლობა;
- ნერგების გამრავლების შესაძლებლობა, მათი იუვენილური ფაზიდან გამოყვანის გარეშე;
- გამრავლების კოეფიციენტი ამ შემთხვევაში გაცილებით მეტია, ვიდრე ტრადიციული მეთოდით გამრავლებისას;
- ქსოვილის კულტურის მეთოდით შეიძლება გამრავლდეს ისეთი მცენარეები, რომლებიც ძნელად, ან სრულებით არ მრავლდებიან ვეგეტატიურად. მაგ: პალმები
- In vitro მცენარის დაბალ ტემპერატურაზე ხანგრძლივად შენახვის შესაძლებლობა, რაც საშუალებას იძლევა შეიქმნას ძვირფასი ფორმების „ბანკი“

ტერმინი „მიკროკლონარული გამრავლება“ პირველად გამოიყენეს 1968 წელს პარტმანმა და კესტერმა, რომელიც მიღებული იქნა როგორც ძირითადი ტერმინი აღნიშნული ტექნიკისათვის. დღეს მიკროგამრავლებაში გულისხმობენ მანიპულაციას მზარდი

ორგანოებით, ქსოვილებით ან უჯრედებით. ის იძლევა მცენარეთა პოპულაციებს სქესობრივი პროცესის ან ტრადიციული ვეგეტატიური გამრავლების გვერდის ავლით (krikorian 1982).

კლონარული მიკროგამრავლების მეთოდთა კლასიფიკაცია ეკუთვნის მურასიგეს (1997), რომელმაც მორფოგენეტიკური რეაქციების საუძველზე გამოყო შემდეგი მეთოდები:

- იღლიური მერისტემის აქტივაცია;
- ადვენტური ყლორტების წარმოშობის ინდუქცია;
- სომატური ემბრიოგენეზი;

კემპელმა კი კლონარული მიკროგამრავლების სამი მეთოდი აღწერა (hempel 1979)

1. მცენარეთა რეგენერაცია უშუალოდ ექსპლანტის უჯრედიდან: მიკროგამრავლების ეს მეთოდი მიმდინარეობს ერთი და იგივე შედგენილობის საკვებ არეზე. ყლორტები და ფესვები ფორმირდება ერთდროულად;
2. კვირტების ჩამოყალიბება, რომელიც დასაბამს აძლევს ვეგეტატიურ ყლორტებს;
3. კალუსის ინდუქცია, პოლიფერაცია და მისგან მცენარის წარმოშობა. მოგვიანებით ისევ მურასიგემ შემოგვთავაზა მიკროგამრავლების მეთოდთა სახეშეცვლილი კლასიფიკაცია სხვადასხვა მორფოგენეტიკური რეაქციების საფუძველზე (1977);
4. იღლიური მერისტემის აქტივაცია;
5. ექსპლანტის ქსოვილიდან ადვენტური ყლორტების განვითარება;
6. კალუსზე ადვენტური ყლორტების განვითარება;
7. ექსპლანტის უჯრედებიდან სომატური ემბრიოგენეზის ინდუქცია;
8. კალუსებზე ემბრიოიდების წარმოშობა;
9. In vitro პირველადი, სომატური ჩანასახებიდან დამატებითი ემბრიოიდების ფორმირება.

   კოლონარული მიკროგამრავლების პროცესი შეიძლება დავყოთ ორ განსხვავებულ ტიპებად:

1. მცენარეში მერისტემების განვითარების აქტივაცია (აპექსი, ღერო, უბის კვირტები);
2. ემბრიოიდების ან კვირტების წარმოქმნის ინდუქცია in vitro, რომელიც თავის მხრივ შეიძლება დავყოთ სამ ქვე ტიპად:

   ა) ორგანიზებული წარმოქმნა უშუალოდ სპეციალიზირებული ექსპლანტის ქსოვილიდან (რეპროდუქციული ორგანოთა ქსოვილი, ეპიდერმისი, სუბეპიდერმული ქსოვილი და სხვა);

ბ) ექსპლანტის უჯრედიდან განვითარებული პირველადი კალუსი;
გ) სუსპენზიური კულტურებიდან გადატანილი კალუსოვანი კულტურა.

ზემოთ აღნიშნულ კლასიფიკაციას საფუძვლად უდევს განსხვავება იმ მცენარეებს შორის, რომლებიც განვითარებულია მერისისტემისაგან და სპეციალიზირებული კალუსური უჯრედებისაგან. პირველ შემთხვევაში უზრუნველყოფილია გენეტიკური იდენტურობა დედა-მცენარესთან, ხოლო მეორე შემთხვევაში მცენარის წარმოშობა უზრუნველყოფს გენომური ცვალებადობის ფართო სპექტრს, რაც თავის მხრივ დამოკიდებულია მცენარის მორფოგენეტიკურ პოტენციალზე და პოტენციალის გამოვლენის პირობებზე.

მიკროგამრავლების ერთ-ერთი მეთოდი დამატებითი ყლორტების წარმოშობა უშუალოდ ექსპლანტის ქსოვილიდან - დაფუძნებულია მცენარის უნარზე, მისგან იზოლირებულმა ნაწილებმა, ხელსაყრელ პირობებში მოთავსებისას, აღიდგინოს ნებისმიერი ორგანო და რეგენირდეს ახალ მცენარედ. ეს პროცესი წარმოადგენს, მცენარის ორგანოთა შორის თავდაპირველადი კორელაციის დარღვევის შედეგს, რომლის შედეგადაც ორგანიზმში დარღვეული წონასწორობა აღდგება (cannot 1963)

ლოგიკურია, თუ ვიტყვით, რომ ადვენტური ყლორტების წარმოქმნა შესაძლებელია მერისტემული ქსოვილისაგან. ყლორტის რეგენერაციისას, მერისტემული ქსოვილი, რომელიც მზარდ ორგანიზმში ასრულებდა მკაცრად განსაზღვრულ ფუნქციას, განიცდის რეორგანიზაციას და რეორგანიზაციის პროცესში ადგილი აქვს პრიმორდიალური კვირტების ჩასახვას. მხოლოდ ამის შემდეგ აღდგება მათი პირველადი ფუნქცია.

ადვენტური ყლორტები მხოლოდ მერისტემული ქსოვილისაგან არ ვითარდება. ფრანგი მკვლევარი თრან თან ვანი, ექსპერიმენტის შედეგად ადასტურებს, რომ ყლორტისა და ფესვის რეგენერაცია წარმოებს მხოლოდ და მხოლოდ ეპიდერმისის უჯრედებისაგან (tran vaon cheyan 1974). შემდეგში, მანვე განახორციელა მხოლოდ ეპიდერმისისა და მის ქვეშ მოთავსებული ქსოვილისაგან შემდგარი ექსპლანტის კულტივირება. აღმოჩნდა, რომ ყლორტების და ფესვების დიფერენციაცია ინდუცირდება მხოლოდ, მაშინ, როცა ექსპლანტის პროფილერაციაში მონაჭილეობს ეპიდერმისი და მის ქვეშ მოთავსებული სუბეპიდერმული შრე. როცა ხდება მხოლოდ სუბეპიდერმალური ქსოვილის კულტივირება, მაშინ მხოლოდ ფესვები ვითარდება. აქვე უნდა აღვნიშნოთ, რომ ცალკე იზოლირებულ ეპიდერმისს არ შეუძლია დამოუკიდებლად ორგანოგენეზის ინდუქცია.

მცენარის ვეგეტატიური გამრავლების ერთ-ერთი ტრადიციული მეთოდია როგორც ინ ვიტრო, ასევე in vitro იღლიური კვირტების გამოყენება და უბის კვირტების ზრდის

აქტივაცია. უპირველესად უნდა აღინიშნოს, რომ უბის კვირტების აქტივაცია უნდა მოხერხდეს მთავარი ყლორტის აპიკალური დომინირების მოხსნით. ეს შეიძლება მიღწეულ იქნეს ღეროს აპექსის მოჭრით, ან მცენარის ჰორმონალური დამუშავებით. აპიკალური დომინირების გამოვლენის ხარისხი მემკვიდრეობითი თვისებაა და დაკავშირებულია მცენარის სხვადასხვა ორგანოს ჰორმონალურ ბალანსთან. კერძოდ, ფოტოჰორმონების ტრანსპორტირებასთან. ეს ნაჩვენები იქნა ვიქსონის და თიმანის მიერ მცენარე სიოსზე. აპიკალური დომინირების მოხსნა შესაძლებელი იყო კვირტის კენწეროს გადაჭრით, ხოლო აღდგენა- გადაჭრილი ადგილის აუქსინით დამუშავებით. თიმანისა და ვიქსონის თეორიის თანახმად ყლორტის წვეროს მერისტემის ქსოვილში სინთეზირებული აუქსინი, ტრანსპორტირდება მთავარ ღეროში.

აუქსინის მაღალი კონცენტრაციის მოქმედებისას ინჰიბრირდება იღლიური კვირტების ზრდა და შესაბამისად იღლიურ კვირტებში ბლოკირდება ციტოკინინის სინთეზი.

მრავალრიცხოვანი გამოკვლევებით დადასტურებულია, რომ ციტოკინინის სინთეზი მიმდინარეობს ფესვებში. იღლიური კვირტების აქტივაცია პირდაპირ პროპორციულ დამოკიდებულებაშია ფესვის არსებობასთან. ფესვების მასტიმულირებელი მოქმედება in vitro სისტემაში, როგორც წესი იცვლება ეგზოგენური ციტოკიკინით, რომლის გავლენითაც იღლიური კვირტები ვითარდება, - მისგან კი გვერდითი ყლორტები. წარმოქმნილ ყლორტებს გამოყოფენ ერთიმეორისგან და ხელმეორედ ახდენენ კულტივირებას საკვებ არეზე. ეს მეთოდი უდევს საფუძვლად მრავალი წიწვოვანი მცენარის (Gebhrdt 1995) დეკორატიული ვარდების (marcelis-van acker 1995) აკაციების დეკორატიული გერბერების და სხვა მცენარეთა გამრავლებას. გერბერას გამრავლებისათვის, ყლორტის აპიკალურ ნაწილს ათავსებენ 4.62 მგ/მოლი კონეტინის შემცველ საკვებ არეზე. იზოლირებული აპექსის ზრდა იწყება გადარგვიდან 6-7 დღის შემდეგ. ვეგეტატიურ ყლორტი ფორმირდება 5-6 კვირის განმავლობაში. ყლორტის ფუძეზე ვითარდება კალუსი. ფოთლის უბეებში განეწყობა კვირტები. საკვებ არეში 1.38 - 4.62 მგ/მოლი კინეტინის შეტანისას ხდება გვერდითი კვირტების სწრაფად განვითარება, რომელიც წარმოქმნის იღლიური ყლორტების მეორად და მესამეულ რიგებს. იღლიური კვირტებისაგან განვითარებული ყლორტების იზოლირება კინეტინის იგივე კონცენტრაციის საკვებ არეზე იწვევს ახლად წარმოქმნილი ყლორტის იღლიური კვირტების აქტივაციას (kataeva 1982).

ექსპერიმენტატორთა აზრით, სტერილურ პირობებში, ყლორტის კენწეროდან, წელიწადში შეიძლება მივიღოთ რამდენიმე ათასი მცენარე (bytenko1964, zhang 1965). მცენარეთა მიკროგამრავლების პროცესში, უმნიშვნელოვანეს ამოცანას წარმოადგენს, საკვებ არეში ფიტოჰორმონების ოპტიმალური კონცენტრაციის შერჩევა (berger 1995, Yamuna 1995). Zingiber spectabile-ს ადვენტური კვირტების მაქსიმალური ინდუქცია

მიმდინარეობს ms საკვებ არეზე მკ/მოლი იზმ-ს და 10 მკ/მოლი ბაპ-ის თანაფარდობისას მაშინ როცა dandrocalamus latiflorus-ს გამრავლებისათვის ოპტიმალურ ჰორმონალური თანაფარდობას წარმოადგენს 0.1 მგ/ლ იმმ, 0.1 მგ/ლ ბაპ და 2 მგ/ლ კინეტინი (zhang 195).

ველური ბალის იღლიური კვირტების მაქსიმალური განვითარება მიმდინარეობს ბაპ 1 მგ/ლ კონცენტრაციის შემცველ საკვებ არეზე. ხოლო 0.5 მგ/ლ კონცენტრაცია იწვევს ნორმალურ სიგრძის ყლორტების ზრდას (kornova 1995). სატაცურის გამრავლებისათვის ჰორმონების შეტანა საკვებ არეში არ ყოფილა აუცილებელი. იგი ადვილად მრავლდება MS საკვებ არეზე, რომელიც შეიცავს 2%- საქაროზასა და 0.6 % აგარს. მიკროგამრავლების კოეფიციენტი შეადგენს 72%, მაშინ როცა 0.1 მგ/ლ კონეტინის, 0.1 მგ/ლ ბაპ და 1 მგ/ლ ნმმ-ს შეტანა საკვებ არეში ააქტივებს გამრავლების კოეფიციენტს 28 %-მდე (daorden 1994). აქედან შეიძლება დავასკვნათ, რომ გამრავლების მაქსიმალური კოეფიციენტი სხვადასხვა მცენარისათვის ერთი და იგივე ბუნების ჰორმონის გამოყენების დროს განსხვავებულია. შესაბამისად, ჰორმონთა ოპტიმალური კონცენტრაციაც განსხვავებულია და ეს უკანასკნელი შეირჩევა ხოლმე ემპირიული გზით. ჰორმონთა მაღალი კონცენტრაციაც მიკროგამრავლების დროს, იძლევა ისეთ არასასურველ ეფექტებს, როგორიცაა მცენარის მორფოლოგიის ცვლილება, იღლიური მერისტემების პროლიფერაციის დაქვეითება. ქვეითდება ყლორტების დაფესვიანების უნარი. საკვებ არეში ფიტოჰორმონების დაბალი და მაღალი კონცენტრაციების მონაცვლეობა კულტივირების სხვადასხვა ციკლზე იძლევა შესაძლებლობას აცილებულ იქნეს ციტოკიკინის, თუ აუქსინის ტოქსიკური მოქმედება მათი ხშირი არსებობით საკვებ არეში.

მცენარეთა კლონალური მიკროგამრავლების პროცესი მოიცავს სამ ეტაპს;

პირველი ეტაპი - მცენარის საწყისი ქსოვილის ექსპლანტირება. ამ ეტაპზე აუცილებელია ინფექციისაგან თავისუფალი, სუფთა კარგად მზარდი მასალის მიღება;

მეორე ეტაპი - საკუთრივ მიკროგამრავლება და მიკროკლონების მაქსიმალური რაოდენობის გაზრდა ახალი კვირტების წარმოქმნის ხარჯზე;

მესამე ეტაპი - გამრავლებული ყლორტების დაფესვიანება. ამ ეტაპზე აუცილებელია უზრუნველვყოთ ნორმალური ფესვთა სისტემის განვითარება, რის შემდეგაც მცენარეები მზად არიან ნიადაგში გადასარგავად, ან გაუკეთდეს დეპონირებაშედარებით დაბალ ტემპერატურაზე.

ზოგიერთი მკვლევარი გამოყოფს მიკროგამრავლების მეოთხე ეტაპსაც, კერძოდ - მცენარის მომზადება ნიადაგში გადასარგავად. ეს ძალიან მნიშვნელოვანი ეტაპია, რომელიც ხშირად პირობების დაუცველობის გამო ლეტალური ეფექტით მთავრდება.

ამიტომ, ამ ეტაპზე აძლიერებენ სინათლის ინტენსივობასა და ტენიანობას. ზრდიან მცენარეთა გამძლეობა პათოლოგიური მიკროორგანიზმების წინააღმდეგ და სხვადასხვა არახელსაყრელი გარემო ფაქტორების მიმართ. ეს კი ხელს უწყობს მცენარეთა გამოწრთობის აკლიმატიზაციის პროცესში (kataeva abestinoi 1981).

In vitro დაფესვიანების პროცესის ერთ-ერთი რთული და ძირითადი პრობლემაა მცენარის სუსტი ზრდა, რომელიც განპირობებულია ფესვთა სისტემის განსხვავებული განვითარებით, ანდა ფესვთა დაღუპვით ნიდაგში გადარგვის დროს. In vitro გამრავლებული მიკროკლონების დაფესვიანებისთვის დებერგმა და მეინმა შემოგვთავაზეს რამდენიმე ხერხი (debergh, maene 1983).

პირველი ხერხის მიხედვით, მეორე სტადიაზე ფორმირებული ყლორტები ითესება რამდენიმე დღე აუქსინის შემცველ საკვებ არეზე. ამის შემდეგ ყლორტები გადააქვთ ნიადგაში. ყლორტების დაფესვიანების ხარისხი 100%-ის ტოლია.

მეორე ხერხი მდგომარეობს იმაში, რომ ყლორტებს, რომელნიც წარმოიქმნენ მეორე სტადიაზე კვირტების გაზრდით ირგვება აუქსინის ხსნარით გაჯერებულ სუბტრატში.

მესამე ხერხი. უშუალოდ გამრავლებული ყლორტები გადააქვთ ნიადაგში. ეს მეთოდი გამოიყენება იმ მცენარეებისათვის, რომლებსაც ფესვები უვითარდებათ ჯერ კიდევ ქსოვილოვან კულტურაში გამრავლებისას, ან იმ მცენარეებისათვის რომელთათვისაც დამახასიათებელია საჰაერო ფესვების განვითარება.

მცენარე - მიკროკლონები, რომლებიც კოლბაში ფესვიანდება და გადაირგვება ნიადაგში, ყველა უსაფრთხოების ნორმის დაცვით, აკლიმატიზირდებიან ძალიან კარგად მინდვრის პირობებშიც კი. რაც უფრო მარტივი და ხელმისაწვდომი იქნება პრაქტიკისათვის გამრავლებული ყლორტების გადატანა ნიადაგში, მით უფრო სწრაფად მოხდება მიკროგამრავლება ძვირფასი სამრეწველო მცენარეთა გამოყვანისათვის (kornova 1995, Nayak 1995).

მორფოგენეზი, რომელიც საფუძვლად უდევს მიკროგამრავლებას, ერთ-ერთი რთული პროცესია მზარდი ორგანიზმის ცხოველმყოფელობისათვის (chengalrayan 1995, კვესიტაძე 1999). ამასთანავე შეიძლება გამოიყოს ოთხი ძირითადი ფაქტორი, რომელიც მიკროგამრავლების წარმატების საწინდარია;

1. დედა-მცენარის გენოტიპი და მდგომარეობა;
2. ექსპლანტის მდგომარეობა;
3. ექსპლანტის კულტურაში შეყვანის თავისებურებანი;

4. კულტივირების პირობები.

კულტივირებული ქსოვილის მორფოგენეტიკური პოტენციალი დამოკიდებულია იმ მცენარესა და იმ ორგანოზე, რომლიდანაც იზოლირებულია ექსპლანტი (molnar 1994, susheelamma 1996) დადგენილია, რომ მორფოგენეზის უნარი ერთი და იგივე მცენარის სხვადასხვა ორგანოებს განსხვავებული აქვთ. ექსპლანტის ფიზიოლოგიურ ასაკს მორფოგენეზის გამოვლინებისათვის დიდი მნიშვნელობა აქვს. რაც უფრო ახალგაზრდაა ორგანო, მით უფრო აქტიურია იგი ფიზიოლოგიური თვალსაზრისით და ამით უფრო სწრაფად მიდის ექსპლანტის გსანვითარება (gebhardt 1995). მიკროგამრავლებისათვის კიდევ ერთ ძირითად ფაქტორს წარმოადგენს ექსპლანტის ზომა, - რაც უფრო პატარაა ექსპლანტი, მით უფრო მცირეა მისი მორფოგენეტიკური პოტენციალის გამოვლინების ხარისხი და პირიქით. პარენქიმის, გამტარი ქსოვილისა და კამბიუმის შემცველ დიდი ზომის ექსპლანტებს შეუძლიათ საკვებ არეში ფოტოჰორმონების არსებობის მიუხედავად სპონტანურად წარმოქმნან კვირტები (tanimoto shizufumi1995). მეორეს მხრივ, მსხვილ ექსპლანტში იზრდება ვირუსისა და სხვა პათოგენების გაჩენის შესაძლებლობა, რაც აფერხებს ქსოვილური კულტურის გადარჩენას (azpeita morales 1995).

მიკროგამრავლების პროცესის საწყისი ეტაპია ექსპლანტის იზოლირება და საკვებ არეში შეტანა-დათესვა. აქ აუცილებელი პირობაა, საწყისი მასალის სტერილიზაცია. რომელიც წარმოებს სხვადასხვა ქიმიური აგენტებით და მათი შერჩევა კონკრეტული მცენარისათვის ხდება ინდივიდუალურად, - თვით ექსპლანტის მორფოლოგიის შესაბამისად.

დებერგისა და მეინის თანახმად, მიკროგამრავლების პროცესში უნდა გამოიყოს ე.წ ნულოვანი ეტაპი, რომლის მიზანია მცენარის წინასწარ მომზადება ექსპლანტის იზოლირებისათვის. ამ მიზნით, იზოლირებამდე მცენარეს ამუშავებენ შხამქიმიკატებით, საიზოლაციო ნაწილების ფარავენ მარლის ტომრებით, რათა თავიდან აიცილონ მწერებით პათოგენების გადატანა. ზრდიან სათბურებში. მასალას იღებენ მცენარის ვარჯის ზედა ნაწილში, ნიადაგის მოშორებით და სხვა (DEBERGH 1983). ოპტიმალურად ჩაითვლება ის ხერხი, რომლის დროსაც მიიღება ჯანმრთელი ექსპლანტები.

კონკრეტული მიკროგამრავლების ეფექტი ძირითადად დამოკიდებულია საკვებ არის კომპონენტების სწორად შერჩევაზე. ფიზიკური და ქიმიური შედგენილობა უნდა შეესაბამებოდეს იმ ამოცანებს, რომელსაც საკვები არე ასრულებს მიკროგამრავლების ნებისმიერ ეტაპზე (anenkov 1994, Compton 1996, ihakur 1995). ნებისმიერი საკვები არე

შეიცავს მინერალურ მარილებს, ნახშირწყლებს, ვიტამინებსა და ჰორმონალური ბუნების ნივთიერებებს; ციტოკიკინებს, აუქსინებს, გიბერელინებს, აბცისის მჟავას და სხვა ნივთიერებებს მაღალი კონცენტრაციით, რომელიც უზრუნველყოფს ქსოვილის კულტურის ნორმალურ ზრდას in vitro (chengalrayan 1995) და აგრეთვე მორფოგენეტიკური რეაქციების სტიმულიტრებასა და ინდუცირებას (lamuna 1995). გამრავლების მესამე ეტაპზე აუცილებელია ისეთი საკვები არე, რომელიც უზრუნვეყოფს ღეროს ზრდასა და მცენარის დაფესვიანებას. რიგი ავტორების აზრით, ამ სტადიაზე მიზანშეწონილია მინერალური არეების გამოყენება, რომლებიც მცირე კონცენტრაციით შეიცავენ მინერალურ მარილოებსა და საქაროზას. ამასთანავე, ნორმალური პროპორციით შეაქვთ აუქსინები (quorin 1995, jiang 1995). ზოგიერთ შემთხვევაში, მცენარე არ საჭიროებს გამდიდრებულ საკვებ არეს და ამიტომ ბიოლოგიურად აქტიურ ნივთიერებებს გამორიცხავენ საკვები არედან (daorden 1994). მიკროგამრავლების დროს, ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების საწინააღმდეგო ექსპერიმენტული მონაცემები გარკვეულ წილად შეიძლება აიხსნას სხვადასხვა მორფოგენეტიკური რეაქციებით ქსოვილთა კულტურაში მიკროგამრავლების რეალიზაციისას. მიკროგამრავლების ინდუქციასა და რეალიზაციაში დიდი მნიშვნელობა აქვს განათებასა და ტემპერატურას. მიკროგამრავლების პირველ და მეორე ეტაპზე, მცენარეთა უმრავლესობისავის ოპტიმალური განათება არის 1500-2500 ლუქსი, განათების ხანგრძლივობა დღე-ღამეში, ანუ ფოტოპერიოდი 14-16 ზოგჯერ 24 საათი კი (wang 1995). ეს დამოკიდებულია მცენარის ინდივიდუალურ მდგომარეობაზე. განათების მაღალმა სიხშირემ შეიძლება შეაჩეროს მცენარის ზრდა და გამოიწვიოს ქლოროზი ან ვიტრიფიკაცია (murashide 1976).

კულტივირების ტემპერატურა კოლერაციაში, უნდა იყოს მცენარის ბუნებრივ პირობებში არსებობის შესაბამისი ნორმალურ ტემპერატურასთან. ტროპიკული მცენარეების კულტივირების ოპტიმალური ტემპერატურა 27 ცელსიუსია. მცენარეთა უმრავლესობისათვის კი 25 გრადუს ცელსიუსი (chalupa 1979, bass 1984, Thompson et al 1987).

In vitro კულტურებისათვის აუცილებელი პირობაა ფოტოტრონში ჰაერის ტენიანობის 65-75%-მდე შენარჩუნება, ხოლო მიკრომცენარეების ნიადაგში გადატანისას აუცილებელია ჰაერის ტენიანობის გაზრდა, რისი მიღწევაც შეიძლება კამერაში ატმოსფერული „ნისლის“ წარმოქმნით.

ამრიგად, მიკროკლონარული გამრავლების ნებისმიერი სტადია წარმატებით წარიმართება ზემოთ ჩამოთვლილი ფაქტორების ოპტიმალური პირობების დაცვით.

კალუსური ქსოვილის კულტურა და მცენარეთა

რეგენერაცია

In vitro ორგანოგენეზის შესახებ, დღეისათვის არსებობს მრავალრიცხოვანი შრომები როგორც ხე, ასევე ბუჩქოვან და ბალახოვან მცენარეებზე (klenovska et al 1983; jonts et al 1984; ysikava 1984; Herrera, Philips 1984; kaul, kochlar 1985; predieri et al 1989; subaiah, minocha 1990). მცენარეული უჯრედის კულტივირების ძირითადი ტიპია კალუსი. კალუსური ქსოვილი თავისთავად წარმოადგენს უჯრედული დიფერენცირების ერთ-ერთ ტიპს, რომელიც დამახასიათებელია უმაღლესი მცენარეებისათვის. მის ფორმირებას საფუძვლად უდევს ტროპიკული და ჰორმონალური პროცესების რეგულაცია. გ. მარგარის (1978) აზრით, პირველადი პრობლემა, რომელიც წარმოიშვება ახალი სახეობების კულტურაში შეყვანის დროს, კალუსური კულტურის მიღების მიზნით, ძირითადი საკვები არეების შედგენილობაა. ხშირად ტროპიკული პირობების შერჩევა წარმოებს ნებისმიერი ერთ-ერთი კლასიკური საკვები არის შემადგენლობის არჩევით. (grib 1983; linskii 1981, cautam et al 1983; margara piollat 1982; prado et al;). უმთავრესად გამოიყენება ms (murashidze, skoog 1962), b (camborg et al 1968) და სხვა, რომლებიც შეიცავენ მდიდარ მინერალურ მარილებს (barthakur et al 1989; poli et al 1990; hachey et al 1991 numerova, pershina 1990; fernandoz-romero et al 1990). ყოველი სახეობა In vitro კულტურაში აყენებს გარკვეულ მოთხოვნილებებს საკვები არეების კომპონენტებისა და შემადგენლობისადმი.

შედარებით ხშირად გამოყენებული საკვები არეებიც არ წარმოადგენენ ოპტიმალურს ნებისმიერი შემთხვევისათვის (lu et al 1989; yanecek 1989; mederos, rod rigues 1990).

რიგი მცენარეებისა მცენარეთარეგენერაციისა და კალუსოგენეზისათვის გამოიყენებს სხვადასხვა საკვებ არეების კომბინაციებს. მაგალითად, რ.გ. ბუტენკომ ჟენშენის უჯრედული კულტურის მისაღებად გამოიყენა საკვები არე, რომელიც შედგებოდა მიკროელემენტებისაგან - უაიტის მიხედვით და ჰელერის მიკროელემენტებისაგან. მცენარე სორგოსათვის გამოიყენება მურასიგე-სკოგი საკვები არე, შტრაუსის მიხედვით დამატებული ვიტამინებით, ხოლო მცენარე viga radiate - ს რეგენერაცია მიმდინარეობდა მურასიგე-სკოგისა და გამბორგის კომბინირებულ საკვებზე (culati et al 1990).

კალუსის პროლიფერაციის საფუძველს, რომელსაც თან სდევს მისგან მცენარის რეგენერაცია, საფუძვლად უდევს ექსპლანტის უჯრედის დედიფერანცია. ტერმინი

„დედიფერენციაციის“ ქვეშ, ესმით უჯრედის არსებული სპეციალიზაციის დაკარგვის და ახალი სპეციალიზაციის შეძენის პროცესი. ე.ი. დაყოფისადმი უუნარო მცენარის უჯრედი ანახლებს დაყოფას, ან ახდენს მერისტემული უჯრედების დაყოფის ტიპის შეცვლას და სხვა შემდგომ გარდაქმნებს კალუსურ უჯრედებში (butenko 1974).

კალუსურ ინდუქციასა და პროლიფერაციიდან ორგანოგენეზში გადასვლის ერთ-ერთ ძირითად პირობას წარმოადგენს ჰორმონალური ფაქტორების არსებობა საკვებ არეში. ჰორმონალურ ფაქტორებიდან, მორფოგენეზის პროცესში ძირითადად როლი ეკისრება აუქსინური და ციტოკინინური ბუნების ზრდის რეგულატორებს. ჰორმონალური ზრდის თეორიის ავტორებად, რომლებმაც საბოლოოდ ჩამოაყალიბეს იგი ოციანი წლების ბოლოს, ითვლებიან ნ.გ. ხოლოდნი (1927) და ფ. ვენტი. ნ.გ. ხოლოდინი მიუთითებდა, რომ ენერგოპლასტიკურ მატერიასთან ერთად, ყოველ ორგანიზმში ყოველთვის არიან ნივთიერებანი, რომლებიც ასრულებენ რეგულატორულ ფუნქციას; იწვევენ მცენარის ზრდის სტიმულაციას, ან ინჰიბირებას (დათრგუნვას). ამ ნივთიერებებს ეწოდება „ფიტოჰორმონები“ ხოლო მათ სინთეთიკურ ანალოგებს- „ზრდის რეგულატორები“.

მცენარეულ ორგანიზმებში მორფოგენეტიკური და ფიზიოლოგიური პროგრამის ჩართვისა და გამოთიშვისათვის გამოიყენება ერთი და იგივე ფიტოჰორმონები განსხვავებული თანაფარდობით. აუქსინის ბუნების ფიტოჰორმონები ააქტივებენ უჯრედის გაჭიმვას - კერძოდ იზრდება მერისტემულ ზონაში საკვების მიზიდვის ძალა. აუქსინი განაპირობებს აპიკალური ყლორტების დომინირებას (გამბურგი 1976). ციტოკინინები და გიბერელინები არეგულირებენ უჯრედის დაყოფის ფაქტორებს აუქსინის თანაარსებობისას ციტოკიკინები აუცილებელია ყლორტის ნორმალური ზრდა-განვითარებისათვის (kulaeva 1973)

კალუსის ინდუქცია და პროლიფერაცია, რომლისაგანაც შემდგომში შეიძლება გამოვიწვიოთ მცენარის დიფერენციაცია მიმდინარეობს აუქსინინის ზემოქმედებით. მაგალითად: ყაყაჩოს ფესვური ექსპლანტიდან კალუსოგენეზის ინდუქციისათვის ექსპლანტის კულტივირება ხდებოდა საკვებ არეზე, რომელიც შეიცავდა 0,5-3,0 მგ/ლ. ინდოლძმარმჟავას (იძმ), ხოლო რეგენერაცია - ამ მჟავას გარეშე. (swar ankar et all 1989). Lycopersicon esculentum - ის აქტიური ზრდა და კალუს წარმომქმნელი პროცესი მიმდინარეობს ნაფტილმჟავას (ნძმ) და ინდოლილძმარმჟავას (იძმ) საკვებ არეზე, ხოლო რეგენერაცია აღინიშნებოდა კალუსიდან მხოლოდ ბენზოლამინოპურინიან (ბაპ) საკვებ არეზე გადატანისას (rolf, siguera 1984). მსგავსი შედეგები იქნა მიღებული რიგი მკვლევარების მიერაც. (stoehz et al, 1989, gam et al 1990; goyoda et al 1990).

ხშირ შემთხვევაში მორფოგენეზის ფაქტორად ითვლება, საკვებ არეში ჰორმონების რაოდენობითი თანაფარდობა. ციტოკიკინ-აუქსინის მაღალი შემცველობისას ხდება ყლორტების განვითარება, ხოლო დაბალი რაოდენობისას- კალუსი ინდუცირდება. ეს მოვლენა დამტკიცებულია მრავალი ნაშრომით (furukava et al 1988. Wakhlu, bazna, 1989; nehra et al 1990).

მაგრამ ხშირად ქსოვილურ კულტურაში გამოვლენილი მორფოგენეტიკური პოტენცია არ ემორჩილება ნორმალური განვითარების კანონზომიერებებს. მაგალითად: solenum viarum- ის ფოთლიდან მორფოგენური კალუსის ინდუქცია საკვებ არეში საჭიროებდა 4 მგ/ლ კინეტინისა და 0.4 მგ/ლ ინდოლინძმარმჟავას (mattos 1989). არაქისის კალუსოგენეზის ინდუქციისათვის საუკეთესო საკვები არე აღმოჩნდა 3 მგ/ლ ბენზოლამინოპურინი და 1მგ/ლ ნაფტილძმარმჟავა, მაშინ როცა ყლორტების რეგენერაციისათვის ნაფტილძმარმჟავას კონცენტრაცია გაზარდეს 2 მგ/ლ -მდე, ხოლო ბენზოლამინოპურინის შეამცირეს 0.5 მგ/ლ მდე (prado et al 1980). მოყვანილ მაგალითებში მორფოგენეზის ინდუცირებისათვის აუქსინისა და ციტოკოკინის თანაფარდობა იცვლება ციტოკინინის მომატებით. საინტერესო შედეგი იქნა მიღებული ვ. დურმიშიძესა და სხვა ავტორების მიერ. მათი დაკვირვებით კალუსური ქსოვილიდან ყლორტების რეგენერაცია ხდებოდა საკვებ არეში 2.4 დ (1 მგ/ლ) არსებობისას (DURMISHIDZE et al 1983).

მცენარეული ქსოვილის მორფოგენეტიკური პოტენციალის გამოსავლენად, ერთ-ერთ ძირითად პირობას წარმოადგენს, საკვებ არეებში ზრდის რეგულატორების გარკვეულ კონცენტრაციათა არსებობა. ასე მაგალითად: საკვებ არეში ბაპ-ის 10 ხუთ ხარისხად 10 ექვს ხარისხად მ კონცენტრაციის შემცველობისას გამოვლინდა წიწვოვნების კალუსის ეფექტური წარმოქმნა (stiffu et al 1985)

რიგ შემთხვევაში, დეფერენცირებული ზრდა შეიძლება მივიღოთ საკვები არეების ზრდის რეგულატორების ბუნების შეცვლით. მაგალითად; იძმ-სა და ბაპ-ის თანაარსებობა კარტოფილის ფოთლის ექსპლანტიდან ინდუქციური კვირტების რეგენერაციისათვის 2 ი პ გამოიყენება ბენზილამინოპურინის ნაცვლად არ იწვევს რეგენერანტების ფორმირებას (chanda et al 1985). Pinusmigra-ს კალუსურ ქსოვილზე ზრდის რეგულატორების გავლენის შესწავლამ გვიჩვენა, რომ 2,4 და ნიფტილძმარმჟავის კომბინაცია კინეტინთან, გავლენას ახდენს კალუსის ზრდაზე, ხოლო ინდოლილძმარმჟავა და ინდოლილერბომჟავა არ იყვნენ ეფექტურნი (koleviska-pletikapic 1982).

გარდა ჰორმონალური რეგულაციისა, განსაკუთრებული მნიშვნელობა ენიჭება მორფოგენეზის გენეტიკურ კონტროლსაც.

მცენარის კულტივირებადი უჯრედის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან თავისებურებას წარმოადგენს ტოტიპოტენტურობა- უნარი მთლიანად გამოიყენოს განვითარების გენეტიკური პროგრამა - მთლიანი მცენარის შექმნის მიზნით.

მცენარის სომატური უჯრედის ტოტიპოტენტურობის საფუძველს წარმოადგენს, ყველა უმაღლესი განვითარების ორგანიზმის ბირთვის ომნიპოტენტურობა, ანუ ზიგოტისათვის დამახასიათებელი გენეტიკური პროგრამის შენახვა ორგანიზმის ყველა უჯრედში და უმაღლესი განვითარების ცხოველური უჯრედებისაგან განსხვავებით, მათთვის მიღებულია გენების განმეორებითი ექსპერსიის არ არსებობა. ეს უკანასკნელი კი განსაზღვრავს იმ გენების აქტივობის ინდუცირებას, რომლებიც უზრუნველყოფენ ორგანოგენეზს (BUTENKO 1964).

ქსოვილურ კულტურაში გენოტიპის როლი მორფოგენური შესაძლებლობების გამოვლინებაში შესწავლილია მრავალ მცენარეში: კარტოფილში, არაქისში, მინდვრის სამყურაში, ბარდაში.

In vitro - ში მცენარეთა თავისუფალი გენეტიკური მანიპულირება დაკავშირებულია სირთულეებთან და თავისებურებებთან; პოპულაციაში, არაორგანიზებულად მზარდ უჯრედებში ფორმათწარმომქმნელი პროცესების ძლიერი და სუსტი უნარი, უჯრედთა ორგანოგენეზში შესვლის ასინქრონული დასაწყისი და უჯრედების ეპიგენეტიკური მდგომარეობა, რომელიც დამოკიდებულია ქსოვილის ხასიათზე, რომელთაგანაც მიღებულ იქნა კულტივირტებადი უჯრედები. კონკრეტულად კულტივირებადი უჯრედის კომპეტენტურობაა, მიიღოს სიგნალი განვითარების პროგრამის გარდასაქმნელად და უპასუხოს მას. უჯრედის ხანგრძლივ სუბკულტივირებას ხშირ შემთხვევაში, მივყავართ უჯრედის მორფოგენური აქტივობის გაქრობამდე. ამ პროცესების და ფაქტორების ოპტიმიზაცია გენურ, მოლეკულურ და უჯრედულ დონეზე რეგულაციის მექანიზმით, საშუალებას მოგვცემს ვმართოთ მცენარეთა განვითარების პროგრამა სომატური უჯრედიდან მცენარემდე. არსებობს მონაცემები, რომლებიც მიუთითებენ გენოტიპის გავლენას კალიუმწარმოქმნის შესაძლებლობებზე (Hanzel et al 1985).

ც. ბროგა იკვლევდა რა გენოტიპურ შესაძლებლობებს მცენარეთა რეგენერანტებში კალუსიდან, სომატური ქსოვილიდან და ჰიპოკოტილედან, მივიდა დასკვნამდე, რომ რეგენერაცია კონტროლირდება ჰიპოსტატიკური გენით ZG და ფენოტიპი მჟღავნდება დიპლოიდურ და ტეტრაპლოიდურ სისტემაში- რეცესიულ ჰომოზიგოტაში. კალუსური ქსოვილიდან მცენარეთა რეგენერაციის გაქრობა კონტროლირდება ეპისტატიკური გენით - hg (brog 1984).

იმისათვის, რომ ახსნილი იქნას გენეტიკური და ფიზიოლოგიური მორფოგენეზის მექანიზმების მართვის სირთულე, საჭიროა აღინიშნოს ის რომ გენეტიკური კონტროლის საკითხი მცენარეებში ძალიან სუსტია.

ექსპერიმენტული ნაწილი

კვლევის მასალა და მეთოდიკა

კვლევის ობიექტი და მისი დახასიათება

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა გოჯიბერი, (Licium Barbarum იგივე wolfberry) ამ მცენარის სამკურნალო თვისებების გამო „სიცოცხლის ხის „ სახელიც უწოდეს

გოჯიბერი არის მარადმწვანე ბუჩქი, მცენარის სიმაღლე აღწევს 3-3.5 მეტრს. ზევიდან ქვევით დაკიდებული ტოტები დაფარულია ნაცრისფერი კანით და ეკლებით

სურათი 1

გოჯის ყვავილები თეთრია და გადაჰკრავთ ვარდისფერი. წაგრძელებული ფორმისაა ნაყოფი ღწევს 1.5-2.0 სმ-ს. ნაყოფი შეიცავს 10-30 წვრილ თესლს. ნაყოფის ფერი მოწითალო-მარჯნისფერი. ყვავილობს მაისიდან-სექტემბრის ჩათვლით, მცენარე საშუალოდ უძლებს: -25 - +40°C

მისი სასარგებლო თვისებები უბრალოდ უნიკალურია, ყველაზე სასარგებლო კენკრაა მთელს დედამიწაზე.

გოჯიბერის 40-მდე სახეობა არსებობს აქედან მხოლოდ 2-ს (ჩინური, ტიბეტური) აქვს მაღალი კვებითი ღირებულება.

სასარგებლო თვისებები;

ვიტამინები - B1, B2, B6, E, C, კაროტინი

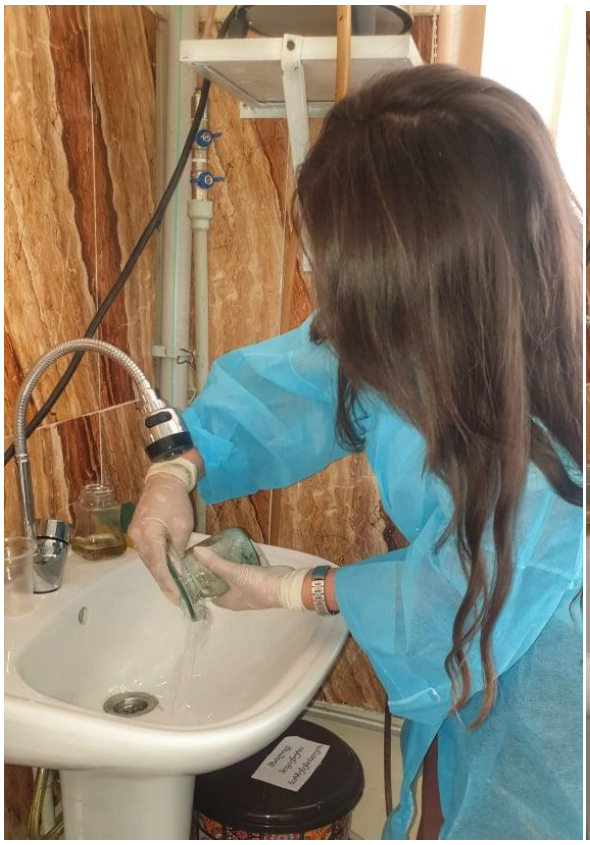
მიკრო ელემენტები: რკინა, თუთია, ფოსფორი, კალციუმი, კალიუმი, სელენი, სპილენძი, იოდი, მანგანუმი, ნიკელი, ქრომი, კობალტი, კადმიუმი, გერმანიუმი.

ანტიოქსიდანტები: ზაექსანტინი, ომეგა 3, ომეგა 6, ბეტა სიტოსტეროლი. და სხვა.

სტერილიზაციის მეთოდები

პირველადი მასალის სტერილიზაციის მეთოდები

პირველად მასალას, რომელიც გამიზნულია საკვებ არეზე დასათესად სტერილურ და კარგად მზარდ ექსპლანტთა მისაღებად, საფუძვლიანად ვრეცხავდით ონკანის ჭავლის ქვეშ. შემდეგ ვავლებდით 2-3 ჯერდასტერილირებულ წყალს. დანარჩენი მანიპულაციები მიმდინარეობდა ასეპტიკურ პირობებში - სპეციალურ დანადგარში-ლამინარ-ბოქსში.



სურათი 2

პირველადი მასალა 1-2 წუთის განმავლობაში თავსდება 96 % -იან ეთილის სპირტში, შემდეგ ვათავსებთ სასტერილიზაციო ხსნარში. მასტერილებელი ნივთიერებების სახით გამოვცადეთ და შემდეგი წყალხსნარების მოქმედება;

ა. კომერციული ქლორიანი ხსნარი. შემადგენლობით-ნატრიუმის ჰიდროქლორიდი; წყალი 50/50 და 25/75 თანაფარდობით;

ბ. პრეპარატი „დიოციდი“. შემადგენლობით - ეთნოლმერკურქლორიდი და ცეტინპიროდონქლორიდი ½ თანაფარდობით. 0,1; 0,2 და 0,5%-იანი წყალხსნარი;

გ. ქლორიან B-ს 10-15%-იანი წყალხსნარი-დეტერგენტის სახით მცენარეული მასალის უკეთ დასველებისათვის, როგორც ზედაპირული სტერილიზაციის გამააქტიურებელი აგენტი დამატებული ქონდა „ტვინ-80-ის რამდენიმე წვეთი.

სტერილიზაციის ექსპოზიციას ვსაზღვრავთ ემპირული ცდის შედეგების საფუძველზე. სტერილიზაციის ხანგრძლივობის დასრულების შემდეგ, მასტერილებელ ხსნარებს ვასხამდით, დიოციდის ხსნარს ვიყენებდით რამდენჯერმე, - ხოლო ქლორამინისა და კალციუმის ჰიპოქლორიდის ხსნარი გამოვიყენეთ მხოლოდ ერთჯერადად. პირველად მცენარეულ მასალას ვრეცხავდით ოთხჯერ, სტერილური დისტილორებული წყლით და წყლის ბოლო ულუფაში ვტოვებდით 0,5-1 საათის განმავლობაშ, მასალის ქიმიური აგენტებისაგან უკეთ გაუვნებელყოფთ მიზნით.

სურათი 3

პირველად ექსპლანტად, გოჯიბერის თესლის გამოყენებისას, ზემოთჩამოთვლილ მეთოდებთან ერთად ვიყენებდით ნაყოფის სპირტქურის ალზე მოწვის მეთოდსაც. თესლების იზოლაცია წარმოებდა ნაყოფ კოლოფიდან, რომელშიც ისინი საკმაოდ სტერილურად იყვნენ მოთავსებული. ზედაპირული სტერილიზაციის ოპტიმალური ეფექტის მისაღებად, გოჯიბერი გამოგვყავდა სათბურებში - სააკლიმატიზაციო ოთახში, ან ფოტოტრონში, რითაც ვღებულობთ ნაკლებად ინფიცირებულ მცენარის ვეგეტირებულ ყლორტებს, იმასთან შედარებით, რასაც ღია გრუნტიდან აღების შემთხვევაში მივიღებთ.

დ) საკვები არეების სტერილიზაცია.

დამზადებულ საკვებ არეებს, ჩასხმულ საკულტივაციო ჭურჭელში, ვასტერილირებდით ატმოსფერული წნევის ქვეშ ГК 1002 ტიპის ჰორიზონტალურ ავტოკლავში 25-30 წუთის განმავლობაში. თუ საკვები არის შედგენილობაში შედიოდა თერმოლაბილური კომპონენტი, მაგალითად ინდოლინმმარმჟავა, ან მცენარეულ ექსტრაქტები, მაშინ ეს ნივთიერებები ტარდებოდა (იფილტრებოდა) წფილტრებში და ასეპტიკურ პირობებში ემატებოდა წინასწარ გასტერილებული განსაზღვრული რაოდენობის საკვებ არეს, რომლის შემდეგაც სტერილურ-კულტურალურ ჭურჭლებში საკვების ჩასხმა წარმოებდა ლამინარ-ბოქსში.

ე) ჭურჭლისა და ინსტრუმენტების სტერილიზაცია:

ხელსაწყოების წინასწარ სტერილიზაცია წარმოებდა გახურებული მშრალი ჰაერით,

- საშრობ კარადაში 2-3 საათის განმავლობაში 160-170 გრადუს ცელსიუს ტემპერატურაზე. ხელსაწყოების განმეორებით სტერილიზაცია ახდენენ უშუალოდ მუშაობის დაწყების წინ, ლამინარ-ბოქსში, -ეთილის სპირტში (96%) ჩაშვებითა და სპირტქურის ალზე მოვწვით.

როცა საკვები არეების ჩასხმა აუცილებელია ლამინარ-ბოქსში ხდება ჭურჭლის წინასწარი სტერილიზაცია მშრალი ცხელი ჰაერით თერმოსტატში, -160-180*C ტემპერატურაზე 4 საათის განმავლობაში 2 ატმოსფერული წნევის ქვეშ. სტერილიზაციის ასეთივე რეჟიმი გამოიყენება წყლის გასასტერილებლადაც.

ვ)საანალიზო ოთახის და ლამინარ-ბოქსის სტერილიზაცია:

ყოველდღიურად, 4 საათის განმავლობაში, ღამის საათებში ხდებოდა საოპერაციო ოთახის სტერილიზაცია ულტრაიისფერი სხივებით; ხოლო კვირაში ერთხელ ოთახი ირეცხებოდა საპნიანი წყლით.

KMG-2M ტიპის ლამინარ-ბოქსში დამონტაჟებული იყო ულტრაიისფერი ნათურები, რომლებიც მუშაობის დაწყებამდე 0.5-1 საათით ადრე დამატებით ასტერილებდნენ კამერის შიგა ნაწილს. წელიწადში ერთხელ ვახდენდით ლამინარ-ბოქსის ფილტრის შეცვლას.

ექსპლანტის ტიპები

ექსპერიმენტისათვის პირველად მასალას ვიღებდით გოჯიბერის დონორი მცენარისაგან, რომელიც იმყოფებოდა როგორც დახურულ, ასევე ღია მდგომარეობაში. დონორი-მცენარე გაშენებულია ქ. ბათუმის შოთარუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის სასწავლო სათბურში. (ასევე ღია გრუნტში)

1. ზრდასრული მცენარეებიდან:
   ა.მზარდიდან-იღლიური და აპიკალური კვირტები, ახალგაზრდა ყლორტების ფოთლები და ღეროები;
   ბ. სათბურებში ვეგეტირებადი მცენარეებიან- იღლიური და აპიკალური კვირტები.
2. იუვინელური მცენარეებიდან:
   ა. სათბურში ბგაწმოყვანილი 3-4 თვიანი ნარგავებიდან - მძინარე და აპიკალური კვირტები, ღეროს ქსოვილი და ფოთლები;
   ბ. ნათესარიდან მიღებული in vitro თესლის კულტივირებით- მთლიანად ყლორტი - ფესვის გარეშე;
   გ. რეიუვენილიზირებული მასალა, რომელიც მიღებული იქნა ზრდასრული მცენარის in vitro კულტივირების შდეგად - ყლორტები, კვირტები და ფოთლები.

სურათი 4

სურათი 5

სურათი 6

საკვები არეების შემადგენლობა და მომზადება

ძირითად საკვებ არეებად ვიყენებდით მურასიგესა და სკოგის (MS), გამბორგის B5 (1964) და ნჩისა და ნიჩის (NM).

პირველ ცხრილში მოცემულია ამ საკვები არეების შედარებით შედგენილობა.

ცხრილი 1

კომპონენტები	**შემადგენლობა მგ/ლ**		
	მურასიგე სკუგი (MS)	**გამბორგი** (B5)	**ნიჩის და ნიჩის (NN)**
I.	II.	III.	IV.
NH4NO3	1650	-	720
KNO3	1900	2500	950
KH2PO4	170	-	68
MGSO4* 7H2O	370	250	165
NaH2PO4 *H2O	-	150	-
(NH4)2 SO4	-	134	-
გ. კალციუმის ქლორიდი			
CaCL2 * 6H2O	**655**	**213**	**328**
დ.რკინის ჰელატი			
FeSO4	**27.3**	**28**	**27.8**
Na2edta*2H2O	**37.3**	**37.5**	**37.3**
ე.ვიტამინები			

თიამინი	**0.1**	**10**	**0.5**	**პასიფლორას კულტივირებ ისათვის გამოყენებულ ი ძირითადი საკვები არეების შედარებით შემადგენლობ**
პირიდოქსინი	**0.5**	**1**	**0.5**	

ნიკოტინის მჟავა	0.5	1	-
მეზოინოზიტი	100	100	100
ბიოტინი	-	-	0.05
ვ.გლიცინი	2.0	-	-
ფოლის მჟავა	-	-	0.5

ნახშირ წყალბადოვანი კვების წყაროდ ვიყენებდით საქაროზას 30 გ/ლ კონცენტრაციით. მყარი საკვების მისაღებად ვუმატებთ აგარს (BACTO AGAR) 6-7 გ/ლ-ზე.

საკვები არეების დასამზადებლად ვიყენებდით მიკრომარილებს (40) მიკრომარილებს (100), კალციუმ ქლორატის (100), რკინის პელატის (20) ვიტამინების (100) კონცენტრულ ხსნარებს. გამონაკლისის სახით საკვებ არეებს, ფხვნილად მხოლოდ მეზოინოზიტს ვამატებდით.

მინერალური მარილების კონცენტრირებული ხსნარები და ვიტამინები ინახებოდა +4 C-ზე.

ექსპერიმენტის შესაბამისად, ძირითადად საკვებ არეებს მცენარეთა განვითარებისათვის ვუმატებდით განსხვავებულ ზრდის რეგულატორებს. ზრდის რეგულატორების კონცენტრაცია გამოიხატებოდა მოლებში.

მე-2 ცხრილში მოცემულია ზრდის რეგულატორთა ხსნარების კონცენტრაციები 10-6 მოლი (მკმ) 1 მლ ხსნარზე.

ცხრილი 2

ზრდის რეგულატორთა ხსნარები

1 მლ ხსნარში 1 მკმ ნივთიერებათა შემადგენლობით

#	ზრდის რეგულატორები	მოლეკულური მასა	მასა (მგ)	გამხსნელი	მოცემულობა მლ.	
					გამხსნელი	წყალი
1	ბაპ	225,6	4	IH HCL	0,3	17.5
2	ზე	220.0	4	IH HCL	0.3	17.9
3	იემ	203.2	4	IH NaOH	0.3	19.4
4	2.4-დ	221.0	4	C2 H5 OH	0.1	18.0
5	ნძმ	186.2	4	IH NaOH	0.3	21.2
6	იძმ	175.2	4	IH NaOH	0.3	22.6

საკვებ არეებს ვამზადებდით შემდეგი თანმიმდევრობით: ვწონიდით აგარს, შემდეგ საქაროზას, ვუმატებდით აუცილებელი რაოდენობის და გარკვეული კონცენტრაციის მაკრო და მიკრო მარილებს, ზრდის რეგულატორებს და ხსნარს დისტილირებული წყლით ვავსებდით სასურველ მოცულობამდე.

შემდეგ ვსაზღვრავდით საკვები არის PH-ს (გარემო არეს). 1 N NaOH და 1 N HCL საშუალებით ვარეგულირებდით PH-ს აუცილებელ ნორმამდე (5.6-5.8). შემდეგ ვაცხელებდით საკვებს, განუწყვეტლივ ვურევდით აგარის სრულ გალობამდე, ცხელ გამზადებულ საკვებ არეს ვასხამდით კულტურალურ ჭურჭელში და ვასტერილებდით ავტოკლავში. ზოგიერთ შემთხვევაში, გამზადებულ საკვებ არეს ჭურჭელში ჩამოვასხამდით სტერილურ პირობებში (ლამინარ ბოქსში), ხოლო თერმოლაბილური

ზრდის რეგულატორებს ვატარებდით ბაქტერიულ ფილტრებში და ავტოკლავირების შემდეგ ვამატებდით საკვებ არეებს.

საკვები არის გამყარების შემდეგ, ოთახის ტემპერატურაზე, ასეპტიკური პირობების დაცვით ლამინარ-ბოქსში ვაწარმოებდით საკვებ არეებზე ექსპლანტთა გადათესვას.

კულტივირების პირობები და მცენარე-

რეგენერანტების აკლიმატიზაცია

ექსპლანტთა კულტივირება წარმოებდა სხვადასხვა ფიზიკურ პირობებში იმის და მიხედვით, თუ როგორი იყო ექსპერიმენტის მიზანი. პასიფლორას კალუსის ინდუქცია და კულტივირება მიმდინარეობდა სხვადასხვა რეჟიმზე:

1: ვათავსებდით სიბნელეში 27+- 1C ტემპერატურაზე: ა) 30-35 დღე; ბ) 10 დღის განმავლობაში, რის შემდეგაც გადაგვქონდა ლუმინესცენციურ ნათებაზე. განათება 2-3 კილოლუქსი. ფოტოპერიოდი: 16 საათი სინათლე და 8 საათი სიბნელე 25+-C ტემპერატურით;

3. სინათლეზე 27+-1 C ტემპერატურაზე, განათება 2-3 კოლოლუქსი;
4. სინათლე 24 საათი, განათება 3 კილოლუქსი.

   კვირტებისა და ყლორტების კულტივირება და ორგანოგენეზის ინდუქცია წარმოებდა უშუალოდ განათებაზე. ახალ საკვებ არეზე გადარგვა ხდებოდა ყოველ 25-28 დღეში. რეგენერაციის ყოველი ვარიანტის შესწავლას ვანდომებდით 8-10 კვირას, 10-12 თვეს.

   დაფესვიანებული მცენარე რეგენერანტები IN VITRO გარემოდან გადაგვქონდა არასტერილურ პირობებში. აკლიმატიზაცია ტარდებოდა სათბურში. გადასარგავად ვიყენებდით ნიადაგისა და ზღვის ქვიშის ნარევს 1/1 თანაფარდობით. გადასარგავ სუბსტრატს ვასხურებდით მიკრო, მაკრო და ვიტამინებიან გამბორგის (B2), ან MS საკვებ არეს. 6-7 დღის განმავლობაში ვინარჩუნებით 100% ტენიანობას, ხოლო შემდეგი 8-10 დღე თანდათანობით ვამცირებდით, რათა მცენარე-რეგენერანტებს საშუალება მისცემოდათ ნორმალური ზრდა-განვითარებისათვის.

დაკვირვება და აღრიცხვა

ექსპერიმენტის მიზანთან დაკავშირებით, შედეგების აღრიცხვას ვაწარმოებდით ყოველ 30-35 დღის, 10-12 თვის განმავლობაში.

ყოველი საცდელი ვარიანტის ბიოლოგიური განმეორება შეადგენდა 10 ერთეულს.

კალუსის ზრდას ავღრიცხავდით ბალებში, სისტემით („-„ ზრდა არ აღირიცხება, „+“ სუსტი ზრდა „++“ საშუალო ზრდის ტემპი, „+++“ კარგი ზრდა, „++++“ ძალიან კარგი ზრდა).

კალუსის წარმოქმნის ეფექტურობას ვსაზღვრავდით დათესილი ექსპლანტის საერთო რაოდენობის შეფარდებით ინოკულირებულ კალუსთან. მცენარე რეგენერანტების დაფესვიანებას კი გამოვხატავდით პროცენტებში.

ექსპერიმენტში, ორგანოგენეზის შესწავლისათვის ვითვალისწინებდით ექსპლანტზე ინიციალების რაოდენობას. ვსაზღვრავდით რეგენერაციის პროცენტს დათესილ ექსპლანტთა საერთო რიცხვიდან.

ვახდენდით ქსოვილური კულტურების, მცენარე-რეგენერანტების, ემბიოგენეზის დაფესვიანების ფოტოგრაფირებას.

სტატისტიკურ დამუშავებას ვაწარმოებდით ბ.ა დოსპეხოვის მიხედვით (1981).

კულტივირების პირობების გავლენის შესწავლა

განსაზღვრული კონცენტრაციის და ბუნების ფიტოჰორმონების გავლენის გარდა, ებრიოსტრუქტურების წარმოქმნაზე პასიფლორას ჰიპოკოტალის კალუსის კულტურაში მნიშვნელოვან ფაქტორს წარმოადგენს კულტივირების ფიზიკური პირობები. 0-ოვან პასაჟში კულტურების ინკუბაციას ვაწარმოებდით ორ რეჟიმად:

1) ½ ნაწილი სიბნელეში, თერმოსტატში 25 +- 1 C ტემპერატურაზე, 12-15 დღის განმავლობაში, შემდგომ, განათებაზე გადატანით- განათება 3 კილოლუქსში, ფოტოპერიოდი 16/8 საათი, 27+- 1 C ტემპერატურა.
2) ½ ნაწილს უშუალოდ განათებაზე ფიტოტრონში, ზემოთ აღნიშნულ პირობებში, ექსპერიმენტების შედეგებმა გვიჩენა, რომ კალუსოგენეზზე, მასზე სომატური

ემბრიოდების ინდუქციასა და განვითარების სიხშირეზე, გავლენას ახდენს კულტურების წინასწარი ინკუბაცია სიბნელეში. სიბნელე ხელს უწყობდა ინტენსიურ კალუს წარმოქმნას და მისი ემბრიოგენური პოტენციალი გაცილებით მაღალი იყო თუმცა მე-18 დღეზე და მეტ ხანს ექსპლანტების დაყოვნება იწვევდა მორფოგენეტიკურ პროცესების შეჩერებას და მისი რეალიზაციისათვის შემდგომში საჭირო იყო ფიტოჰორმონების კონცენტრაციათა მომატება საკვებ არეში. სიბნელეში განვითარებულ კალუსებზე სჭარბობდა მოყვითალო ფერის, გლობალური ფორმის ემბრიოიდების განვითარება. იმ შემთხვევაში, როცა ექსპლანეტების ინკუბაცია მიმდინარეობდა უშუალოდ სინათლეზე, წარმოქმნილ კალუსებში აღინიშნებოდა ქლოროფილის წარმოქმნა. ფორმირებულ ყველა ემბრიოიდს ჰქონდა ღია-მწვანე შეფერილობა და წაგრძელებული „ტორპედოსებრი“ ფორმა. ორთავე რეჟიმის პირობებში წარმოქმნილი სომატური ემბრიოიდები ხასიათდებოდა შესანიშნავი მორფოგენეტიკური პოტენციალით. განვითარების კანონზომიერებანიც მსგავსი იყო, მხოლოდ განსხვავდებოდნენ მორფოგენეზის ინტენსიურობითა და რეგენერაციის კოეფიციენტით. ამასთანავე, სინათლეზე ინკუბირებული კალუსების კულტურებზე წარმოქმნილი სომატური ემბრიოიდების განვითარებისათვის, უმჯობესი იყო მათი ცალკეულად იზოლირება და რეგენერაციისათვის ახალ საკვებ არეზე გადატანა, სადაც ბაპ-ის შემცველობა აჭარბებდა ნძმ-ს კონცენტრაციას.

ცხრილი 3

კულტივირების პირობების გავლენა სომატური ემბრიოიდების წარმოქმნაზე

კულტივირების პირობები	კულტივირების რაოდენობა	სომატური ემბრიოიდების საერთო რაოდენობა	მწიფე (რეგენერირებადი) ემბრიოიდების რაოდენობა
წინასწარ სიბნელეში კულტივირება	10	134	109
ფოტოპერიოდის (16/8) პირობებში კულტივირება	10	94	83

მიკროკალმების დაფესვიანების თავისებურებათა შესწავლა

ზრდის რეგულატორების გავლენა დაფესვიანების პროცესზე

მორფოგენეზის პროცესი ქსოვილის კულტურაში მთავრდება მცენარეთა დაფესვიანებით. შესაძლებელი აღმოჩნდა არანაკლებ 3-4 და მეტი იღლიური კვირტების შემცველი ყლორტების დაფესვიანება. დაფესვიანებისთვის გამოვიყენეთ მურასიგესკოს საკვები არე, განახევრებული შემადგენლობის მარილებისა და ვიტამინების მიხედვით, რადგანაც როგორც აღვნიშნეთ, სრული შედგენილობა იწვევს უხვ კალუსოგენეზს და კვირტის ბაზალურ ნაწილში, ამ შემთხვევაშიც, ადგილი ექნება კალუსური მასის განვითარებას, რაც შეაფერხებს რიზოგენეზს და თუ კი რიზოგენეზს მაინც ექნება ადგილი - მცენარე-რეგენერატი აკლიმატიზაციის პროცესში დაიღუპება, ვინაიდან მასაზრდოებელი ნივთიერებები შეწოვილი ფესვის მიერ ჩაგროვდება კალუსში და მცენარე ნორმალურად ვერ განვითარდება საკვები ნივთიერებების ნორმალურად მოუწოდებლობის გამო.

იმის გამო, რომ ლიტერატურაში არ მოიპოვება მასალები პასიფლორას, თუნდაც ნებისმიერი სახეობის, მორფოგენეზის შესახებ და არაა ცნობილი მცენარის ქცევა დაფესვიანებისათვის აუქსინების მიმართ, ამიტომ ფოტოჰორმონების სახით დაფესვიანების პროცესის შესწავლისათვის გამოვიყენეთ ის აუქსინები, რომელთაც პრაქტიკულად შეუძლიათ დაფესვიანების ინდუქცია: ნაფტილძმარმჟავა, ინდოლილერბომჟავა, და ინდოლძმარმჟავა შემდეგი კონცენტრაციებით: 0.5; 2; 4; 6; 8; 10; 100; და 150 UM

1. კვირტებს ვთესავდით უჰორმონო, აგარიზებულ ½ MS საკვებ არეზე:
2. ყლორტებს 5-10 საათის განმავლობაში ვათავსებდით აუქსინთა მაღალი კონცენტრაციის (100; 150) შემცველ ხსნარში, ასეპტიკურ პირობებში შემდეგ კი გადაგვქონდა უჰორმონო ½ MS საკვებ არეზე;
3. აუქსინებს ვუმატებდით უშუალოდ საკვებს და მასზე ვთესავდით ყლორტებს. პირველი ხერხის გამოყენებით, პრაქტიკულად შეუძლებელი გახდა პასიფლორას მიკროყლორტების დაფესვიანება. დაფესვიანებული ყლორტების პროცენტული მაჩვენებელი 2-3 %-ს შეადგენდა, რაც იმის მაჩვენებელია, რომ

ადგილი ჰქონდა სპონტანურ დაფესვიანებას, მცენარის მიერ სინთეზირებული ენდოგენური ჰორმონების გავლენით.

ფესვთწარმოქმნის პროცესი ხანგრძლივი იყო და შეადგენდა 60-70 დღეს. წარმოქმნილი ფესვები იყო ძაფისებრი, დაუტოტავი და შეუბურავი. ფესვის წარმოქმნა მიმდინარეობდა ყლორტის ბაზალურ ნაწილში კალუსის განვითარების გარეშე. ახალი ფოთლების წარმოქმნას ყლორტის აპიკალურ ნაწილში არ ჰქონდა ადგილი, არ შეიმჩნეოდა არც ქვედა ფოთლის ფირფიტის მოცულობაში ზრდა და არც იღლიური მერისტემათა გააქტიურება. ფაქტიურად ასეთ საკვებზე მცენარე არათუ ფესვიანდებოდა არამედ აჩერებდა ზრდა განვითარებას. დაფესვიანებული ყლორტები ვერ აკლიმატიზირდებოდნენ.

2 ხერხის გამოყენებით, მოხერხდა დამუშავებული ყლორტებიდან 35-60% დაფესვიანება. დაფესვიანების ხანგრძლივობა შეადგენდა 26-55 დღეს. გამოყენებული აუქსინების ხსნართა გავლენა დაფესვიანებაზე იზრდებოდა შემდგომი მიმართულებით: იმმ > ნმმ > იემ. დაფესვიანების დაბალი კონცენტრაცია ჰქონდა იმმ -ს ხსნარის გამოყენებისას (16-35%), ნმმ-თი დამუშავებული ყლორტებიდან დაფესვიანდა 25-48% ხოლო იემ-ს ხსნარით დამუშავებული 44-60%. ფესვთწარმოქმნას წინ უსწრებდა მცირე ზომის კალუსის განვითარება. ფესვები კალუსური წარმოშობის იყო, ზომიერი სისქისა და სიგრძისა,დატოტიანება მცირე, შებურულობა სუსტი, უმნიშვნელო. მიკროკლონს სჭირდებოდა მთელი მორფოგენეტიკური სისტემის მობილიზება ფესვთწარმოქმნისათვის, რის გამოც სიმაღლეში ზრდა მთელი პასაჟის განმავლობაში (30-60 დღე) ფაქტიურად არ მიმდინარეობდა. ფესვების ჩამოყალიბების შემდეგ. მცარე-მიკროკლონი დაჩქარებული ტემპით იწყებდა ზრდა-განვითარებას ახალი საკვები არის მიწოდების შემდეგ. ასეთ მცენარეებზე განვითარებული იყო საშუალოდ 4-5 ფესვი და ისინი მზად იყვნენ გრუნტში გადასატანად აკლიმატიზაციისათვის . აუქსინთა დაბალი კონცენტრაციის ხსნართა გამოყენება (50-70) იგივე ექსპოზიციით ამცირებდა დაფესვიანების კოეფიციენტს, ხოლო ექსპოზიციის გაზრდა 12-15 საათამდე უმნიშვნელოდ უწყობდა ხელს ფესვების ჩასახვასა და განვითარებას. ხანგრძლივდებოდა დაფესვიანების პროცესი და აღწევდა 70-80 დღეს. ამასთან, წარმოქმნილი ფესვების რაოდენობა დაბალი კონცენტრაციის აუქსინთა ხსნარების გამოყენებისას შეადგენდა 2-3 ერთეულს, რაც ამცირებდა აკლიმატიზაციის კოეფიციენტს და შესაბამისად მცენარეთა სიცოცხლისუნარიანობას.

დაფესვიანებისათვის საუკეთესო აუქსინი აღმოჩნდა იემ. ოპტიმალური კონცენტრაცია შეადგენდა 4-6, დაფესვიანების ხანგრძლივობა შემცირდა 20-25 დღემდე, ფესვები ძლიერ განვითარებული იყო უხვად შებურული, დატოტიანებული. ფესვთწარმოქმნის პარალელურად აღინიშნებოდა ყლორტის ბაზალურ ნაწილში

განვითარებულ მორფოგენურ კალუსიდან DE NOVO ადვენტური ყლორტების განვითარება.

გოჯიბერის მცენარე-რეგენერანტთა აკლიმატიზაცია

დაფესვიანებული მცენარე-რეგენერანტები გადაგვქონდა აკლიმატიზაციისათვის სათბურებში. კონტროლირებადი ტემპერატურის პირობები - 25± 1°C . დაფესვიანებისათვის გამოყენებული მეთოდებიდან, ყველაზე ეფექტური აღმოჩნდა მე-3 მეთოდი. დაფესვიანების მაღალ პოტენციურ მაჩვენებლებთან ერთად, ამ წესით დაფესვიანებული მიკროყლორტების აკლიმატიზაციის ხარისხიც მაღალი იყო, თუმცა მე-2 მეთოდით დაფესვიანებული მცენარეებიც არანაკლები ეფექტურობით ახორციელებდნენ გრუნტთან შეჩვევის პროცესს, რასაც ვერ ვიტყვით 1 მეთოდით ინდუცირებულ ფესვთა სისტემის აკლიმატიზაციის უნარზე.

მცენარე რეგენერანტებს ვრგავდით 35X50 სმ ფართობისა და 15-20 სმ სიმაღლის ფსკერზე ნასვრეტების მქონე საკულტივაციო ყუთებში, რომელშიც 7-8 სმ სიმაღლის შრედ - სუბსტრატის სახით მოთავსებული იყო სტერილური მიწისა და ქვიშის ნარევი 1:1 თანაფარდობით. თითოეული მცენარის კვების მოცულობა შეადგენს 5X3 სმ, რაც სრულებით საკმარისი იყო მცენარეთა ზრდა-განვითარებისათვის 40-50 დღის განმავლობაში. სუბსტრატში სასუქის სახით შეტანილი იქნა მინერალური მარილებისა და ვიტამინების ხსნართა ნარევი ½ MS ფორმულის მიხედვით. კოლბიდან განთავისუფლების შემდეგ მცენარეებს რაც შეიძლება სწრაფად და მჭიდროდ ვრგავდით, რათა არ წარმოქმნილიყო ფესვსა და სუბსტრატს შორის ჰაერის ფენა. ეს უკანასკნელი ხელს უშლის წყლისა და მინერალური მარილების შეწოვას. მცენარეების დარგვის შემდეგ, ყუთებს ვაფარებდით პოლიეთილენის აპკს, ან მინას, რომლის შიგნით მცენარეები თავად ქმნიდნენ თავის მიკროკლიმატს. დარგვიდან 7-8 დღის შემდეგ მცენარეები ეჩვეოდნენ სათბურის კლიმატს. ამ პროცესს ვუწოდებდით გამოწრთობის პროცესს, რაც ხორციელდებოდა თავდაპირველად დღე-ღამეში ერთხელ 10 წუთით მინის, ან პოლიეთილენის აპკის გადახდით, ატმოსფერული ჰაერთან შეჩვევის და ტენიანობის დაქვეითების მიზნით. გამოწრთობის ხანგრძლივობას (დროს) ყოველდღე ვუმატებდით. 10-15 დღის შემდეგ სრულებით ვხსნიდით დამფარავ საშუალებას. გამოწრთობის პარალელურად ვრწყავდით მცენარეებს 1/4 MS ფორმულის მიხედვით მინერალურ მარილთა და ვიტამინთა ხსნარებით. მცენარეებს ვტოვებდით ყუთებშიდამატებით12-15 დღის განმავლობაში, ხოლო შემდეგ გადაგვქონდა ღია გრუნტში.

მცენარე რეგენერანტების ზრდა-განვითარება აკლიმატიზაციის პირველ ნახევარში თითქმის არ შეინიშნება. სიცოცხლის უნარიანი მცენარეები ინარჩუნებენ მუქ მწვანე შეფერილობას, სწორ მდგომ ღეროს ფოთლების ჩვეულებრივ მორფოლოგიას, თუმცა ზოგჯერ აღენიშნებოდაფოთოლთა მოღრობა და დაჭმუხნვნა. გამოწრთობის პროცესის დაწყებას, თან ახლდა ზრდის პროცესების დაწყება. თავდაპირველი შესამჩნევი ცვლილება იყო კენწეროდან პირველი ფოთლის გაშლა და ფოთლის ფირფიტის ზედაპირის თანდათანობით მატება. პარალელურად იზრდებოდა ფესვთა სისტემაც როგორც სიგრძეში, ასევე სისქეში. მატულობდა დატოტიანება, რაც საბოლოოდ გახდა საბაბი გამოწრთობის ბოლო ეტაპზე მცენარის სწრაფი ზრდა-განვითარებისა. შემდგომი ორი კვირის განმავლობაში მცენარეები აღწევდნენ თვადაპირველ ზომასთან შედარებით დაახლოებით 3-4 ჯერ მატებას სიმაღლეში. მიწისზედა ნაწილის სიმაღლე ნიადაგში გადატანიდან ერთი თვის განმავლობაში აღემატებოდა 40-50 სმ-ს, ხოლო ფესვთა სისტემა 12-20 სმ-ს. ფესვთა სისტემა თანდათან იძენდა ფუნმა-ფესვისათვის დამახასიათებელ ფორმას.

მცენარე-რეგენერანტების საერთო რაოდენობიდან (150ცალი) აკლიმატიზაციის პერიოდში დაიღუპა 21 მცენარე, რის გამოც სიცოცხლისუნარიანობა და აკლიმატიზაციის ხარისხი შეადგენდა 86%-ს.

დღეს, სოფლის მეურნეობის განვითარების უმნიშვნელოვანესი ამოცანაა ტრადიციულ კულტურებთან ერთად, ხელი შეუწყოს ქვეყანაში კონკრეტულ უპირატესობის მქონე, მაღალ ადაპტური კულტურების შემოტანას და გამოდას, როგორიცაა მაგალითად, კენკროვანი ხილი, გოჯი. გოჯი კენკრა - ლყციუმ ბარბარუმ, წოლფბერრყ, გოუ კი, ლყციი - არ არის უბრალოდ სენსაცია. დღეს იმდენად დიდიდა, გატაცება ამ პროდუქტით, რომ უკვე საუბრობენ გოჯიმანიაზე.

ასეთი პოპულარობა, ამ უნიკალურმა ხილმა, ამერიკის შეერთებულ შტატებსა და ევროპაში , ცოტა ხნის წინ მიიღო, მაგრამ აღმოსავლეთში მისი სასწაულებრივი სამკურნალო თვისებები უკვე ცნობილია მრავალი ათასი წლის განმავლობაში. გოჯი კენკრამ კომერციული მნიშვნელობა გასული საუკუნის 90-იან წლებში, ჩინეთსი შეიძინა, სადაც დაინერგა ამ სახეობის ახალი გაუმჯობესებული ჯიშები. კულტურის დასახელება- გოჯი ჩინური წარმოშობისაა.

ჩინეთში ამჟამად აწარმოებენ (მსოფლიო 90%- ზე მეტი) 95 000ტონა გოჯის კენკრას. გოჯი კენკრა (მგლის კენკრა, თეთრეკალა) ძაღლყურძენასებრთა ოჯახის

წარმომადგენელია. იგი მიეკუთვნება ₾ციუმ ბარბარუმ - ის სახეობას, რომლის ველური ფორმები გავრცელებულია აღმოსავლეთ საქართველოს ხრიოკ ადგილებში .

ჩვენთან, ეს მცენარე თეთრეკალას სახელით არის ცნობილი. გოჯი ხასიათდება სამკურნალო თვისებებით; ჩინური ფოლკლორი გოჯის ბედნიერების კენკრას უწოდებს. იგი საუკეთესო ანტიდეპრესანტია.

გოჯი წარმოადგენს ბუჩქს ან ხე-მცენარეს, რომელიც ნაკლებად მომთხოვნია კლიმატური და ნიადაგის პირობებისადმი, თუმცა უპირატესობას ანიჭებს კარბონატულ, მაღალი PH -ს მქონე, კარგად დრენირებულ მსუბუქ ნიადაგებს. იტანს დამლაშებას.

მცენარისათვის უმჯობესია მზიანი ადგილები. შედარებით უკეთესად უძლებს გვალვას, თუმცა ამ შემთხვევაში მოსავალი მკვეთრად ეცემა. ხასიათდება კარგი ზამთარგამძლეობით - უძლებს - 20-21^{0}C ყინვას.

კვლევის მიზანი

უკანასკნელ წლებში, საქართველოში შემოტანილი იქნა გოჯის რამდენიმე ჯიში, რომელთა აგრონომიული და კომერციული თავისებურებების შესახებ არ არის ჩატარებული სამეცნიერო კვლევა.

კვლევის მიზანია პირველად გოჯი ჯიშის ნინგსია N1, ბიოლოგიურ-სამეურნეო თავისებურებების შესწავლა შიდა ქართლის პირობებში.უკანასკნელ წლებში, საქართველოში შემოტანილი იქნა გოჯის რამდენიმე ჯიში, რომელთა აგრონომიული და კომერციული თავისებურებების შესახებ არ არის ჩატარებული სამეცნიერო კვლევა.

ჯიში-ნინგსია N1, ხასიათდება კომპაქტური ზრდით, ადრემსხმოიარობით (ზოგჯერ მოსავალს იძლევა პირველ წელსვე) , უხვი მოსავლით და ნაყოფების მაღალი ხარისხით. კვლევა ხელს შეუწყობს ახალი კულტურის დანერგვას და გავრცელებას საქართველოში.

კვლევის ობიექტი და ჩატარების პირობები:

კვლევის ობიექტია კენკროვანი ხილის გოჯი ჯიში-ნინგსია N1, რომლის პირველადი შესწავლა ჩატარდა 2014-16 წლებში, სამეცნიერო კვლევითი ცენტრის საგურამოს სოფელ ჯიღაურას საკოლექციო ნაკვეთში. ბაღი გაშენებულია 2011 წელს , 3X1 5მ კვების არეძე დაკვირვება წარმოებდა ერთნაირ აგროტექნიკურ პირობებსი მყოფ გოჯის 10 მცენარეზე. შესწავლილი იქნა თითოეული მცენარის მიხედვით შემდეგი ბიოლოგიური

მახასიათებლები; ბუჩქის სიმაღლე, ყლორტის წლიური ნაზარდების სიგრძე. განისაზღვრა ყვავილობის და სიმწიფის ვადები; 1 ბუჩქის საშუალო მოსავლიანობა (კგ-ში) ; ჩატარდა ნაყოფის პომოლოგიური აღწერა.

კვლევის შედეგები :

დაკვირვებამ გვიჩვენა, რომ ჯიშ ნინსია N1 - ის ბუჩქს ახასიათებს ზომიერი კომპაქტური ზრდა და ყლორტების განვითარების კარგი უნარი.

სურათი 7

ბუჩქის სიმაღლე საშუალოდ შეადგენდა 112 სმ. დროთა განმავლობაში მისი სიმაღლე უფრო მატულობს. ბუჩქი წელიწადში სიმაღლეში იზრდება საშუალოდ 160 სმ- ით. ყლორტები არის ნაზი, ღია ყავისფერი, ან მონაცრისფრო ფერის. ღეროები სწორმდგომია, მაგრამ აქვს მიდრეკილება ჰორიზონტალური მიმართულებით გადახრის. ყლორტს ახასიათებს ზრდის სამი ფაზა. ზრდის დასაწყისი (მაისი) , აქტიური ზრდა (ივლისი-აგვისტო) და ზრდის დასასრული (ნოემბერი).

ფოთლები მარტივი, ღეროზე მორიგეობით არის გაწყობილი, ლანცეტისებური ფორმის კიდემთლიანი. ფოთლის სიგრძე საშუალოდ 7.0 სმ - ია სიგანე კი 3.5 სმ. საყვავილე კვირტები ისახება ფოთლის იღლიაში, საიდანაც ვითარდება ზარისებრი ფორმის 1-3

იისფერი შფერილობის მარტივი ყვავილი . 5-6 გვირგვინის ფოთლით . 10-15 მმ დიამეტრის.

კვლევის პერიოდში ჯიშის ყვავილობა მიმდინარეობდა მაისსში. ყველაზე ადრე ყვავილობა დაიწყო 4 მაისს , ხოლო გვიან ყვავილობა 22 მაისს. ყვავილობისთვის ყველაზე ხელსაყრელი კლიმატური პირობები იყო 2014 წელს. საკვლევ ზონაში, წლების მიხედვით ჯიშის ყვავილობის და სიმწიფის კალენდარული ვადები, წლების მიხედვით ცვალებადია, რაც კლიმატური პირობების სხვადასხვაობით აიხსნება. ეს ჯისი ხასიათდება ადრემსხმოიარობით (ზოგჯერ მოსავალს იძლევა პირველ წელსვე). უხვი მოსავლით და ნაყოფების მაღალი ხარისხით. ბუჩქის საშუალო მოსავალი შეადგენს 1.18 კგ ნაყოფის საშუალო მასა უდრის 0.45გ (1.6X0.9 მმ) ნაყოფი ქიმურმა ანალიზმა გვიჩვენა , რომ ხსნადი მშრალი ნივთიერების შემცველობა ცვალებადობს18.5-21.8%.

ცხრილი 3

ჯიში ნიგსია N1	წელი	საშუალო
ბუჩქის სიმაღლე	200	160
ყლორტის წლიური ნაზარდის სიგრძე (სმ)	19.4	19.0
ვარჯის დიამეტრი (სმ)	154	134
ვარჯის მოცულობა (სმ)	0.76	0.69

ყვავილობის პერიოდი	04.05	14.05
სიმწიფის პერიოდი	23.06	12-18.07
ნაყოფის მასა (გრ)	0.42	0.45

კოლექციაში ჯიშის ნინგსია სამეურნეო ბიოლოგიური თავისებურებების კვლევის და პომოლოგიური აღწერის პირველი ეტაპის ჩატარების შედეგად, დადგინდა, რომ კენკროვანი ხილი საკმაოდ კარგად ხარობს აჭარის პირობებში.
სამეცნიერო კვლევა უნდა გაგრძელდეს სხვა მაჩვენებლების შესწავლის კუთხითაც და განსხვავებულ კლიმატურ პირობებში.

გოჯიბერის ზრდა-განვითარების შედეგები

1. ჩატარებულმა ექსპერიმენტულმა კვლევამ გვიჩვენა ქსოვილის უჯრედის და ორგანოს in vitro მეთოდის წარმატებით გამოყენების შესაძლებლობა სამკურნალო მცენარის პასიფლორას კლონალური მიკროგამრავლებისა და მასიური რეგენერაციის მიღების საქმეში.
2. დადგენილი იქნა, რომ სიცოცხლისუნარიანი ექსპლანტების მიღებისათვის საუკეთესო პირველად მასალას წარმოადგენს როგორც თესლები, ასევე ვეგეტირებადი ყლორტის აპიკალური და იღლიური კვირტები.
3. არაინფიცირებული, სტერილური კულტურების მისაღებად უმჯობესი აღმოჩნდა „დიოციდის“ 0,2%-იანი წყალხსნარის გამოყენება ექსპოზიციით 15-20 წუთი და კომერციული ქლორის წყალხსნარი (50%) ექსპოზიციით 20-25 წუთი.
4. გოჯიბერის მიკროგამრავლების მაღალი ეფექტურობისათვის აუცილებელია მიკროკალმების ტროპიკული უზრუნველყოფა მურასიგე-სკოგის საკვები ფორმულის მიხედვით.
5. გოჯიბერის კლონალური გამრავლებისთვის აუცილებელია საკვებ არეში ციტოკინინური ბუნების ჰორმონთა შეტანა. საუკეთესო შედეგი მოგვცა ბაპ-ის 5-15 კონცენტრაციის გამოყენებამ. მიკროგამრავლების პროცესის სტიმულირებისათვის მიზანშეწონილია საკვებ არეში ციტოკინინებთან ერთად აუქსინური ბუნების (ნძმ) ჰორმონების მცირე რაოდენობით შეტანა.
6. მიკროგამრავლების მაღალი ინტენსიურობის შენარჩუნების მიზნით უმჯობესია კულტურების ინკუბაცია 16/8 საათის ფოტოპერიოდის, განათება 2-3 კილოლუქსის ინტერვალი და 26 ± 1°C ტემპერატურის პირობებში.
7. შემოწმებულია მორფოგენური კალუსური ქსოვილების მიღების გზები ფოთლის ექსპლანტიდან კალუსების ეფექტურობის დამოკიდებულება ჰორმონების ბუნებასა და კონცენტრაციაზე.
8. ნაჩვენებია კალუსური კულტურების მორფოგენეზისა და რეგენერაციის უნარის დამოკიდებულება ფიტოჰორმონების ბუნებასა და კონცენტრაციაზე, შერჩეულია მათი ოპტიმალური კონცენტრაციები
9. დადგინდა, რომ გოჯიბერის კალუსოგენეზისა და სომატური ემბრიოგენეზის ინდუქცია სტიმულირდება ექსპლანტების 15 დღის განმავლობაში სიბნელეში ინკუბირებით, ხოლო რეგენერაციული უნარის გამოვლენისათვის აუცილებელია სინათლის ფაზა.
10. დაფესვიანების ყველაზე ეფექტური მეთოდის (დაფესვიანება60-100%) წარმოადგენს ½ MS საკვებ არეში აუქსინების გარკვეული კონცენტრაციის შეტანა. გამოყენებული აუქსინებიდან ყველაზე კარგი შედეგი მოგვცა იემ-ს 4-6 კონცენტრაციის გამოყენებამ.

11. გოჯიბერის მცენარე-რეგენერანტები ხასიათდებიან საკმაოდ მაღალი (80%) აკლიმატიზაციის უნარით არასტერილური პირობებისადმი და შეიძლება მათი სათბურში გადატანა წლის ნებისმიერ დროს.
12. გოჯიბერის მორფოგენეზის შესწავლამ ცხადყო, რომ შემუშავებული მეთოდები შეიძლება წარმატებით იქნას გამოყენებული ამ კულტურის სელექციურ-გენეტიკურ სამუშაოებში როგორც პრაქტიკული, ასევე თეორიული თვალსაზრისით.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. მცენარეთა ბიოტექნოლოგიის საფუძვლები - მ. ღოღობერიძე, ნ. ჭელიძე

   მცენარეთა Im vitro კულტურების მეთოდები - თბილის 2009წ.

2. მცენარეთა ბიოტექნოლოგია - ვახტანგ ქობალია. თბილისი 2008წ.

3. აგრობიოტექნოლოგია - ავთანდილ კორახაშვილი , მარიამ გაიდამაშვილი . თბილისი 2012წ.

4. მოლეკულური ბიოლოგია - რუსუდან ხუხუნაიშვილი

   გამომცემლობა - ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი . ბათუმი 2014 წ.

5. ბიოტექნოლოგიის საფუძვლები - ხათუნა გამყრელიძე. ბათუმი 2014წ.