ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

ხელნაწერის უფლებით

მარინა ლასხიშვილი

საქართველოს მარილიან ნიადაგებსა და ტბებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები

03.00.07 – მიკრობიოლოგია

დისერტაცია წარდგენილია ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიტატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი
გ ი ო რ გ ი კ ვ ე ს ი ტ ა ძ ე
ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატი
ლ ა ლ ი ქ უ თ ა თ ე ლ ა ძ ე

თბილისი
2006

ს ა რ ჩ ე ვ ი

შესავალი.

თავი I. ლიტერატურის მიმოხილვა.

1.1. ჰალოფილური მიკროორგანიზმები.

1.2.Hჰალოფილური მიკროორგანიზმები–ექსტრემალური ფერმენტების პროდუცენტები.

თავი II. ექსპერიმენტული ნაწილი.

2.1 საქართველოს მარილიანი ნიადაგებიდან და ტბებიდან მიკროსკოპული სოკოების გამოყოფა.

2.2 გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების იდენტიფიკაცია.

2.3. α- და გლუკო-ამილაზების, ცელულაზების, ქსილანაზებისა და პროტეაზების პროდუცენტი მიკროსკოპული სოკოების შერჩევა.

2.4 α-ამილაზური აქტივობის განსაზღვრა.

2.5. გლუკოამილაზური აქტივობის განსაზღვრა.

2.6. საერთო ცელულაზური აქტივობის განსაზღვრა ფილტრის ქაღალდის მიხედვით.

2.7. ქსილანაზური აქტივობის განსაზღვრა.

2.8 პროტეაზური აქტივობის განსაზღვრა.

2.9 კულტურების პათოგენურობის დადგენა.

2.10 ტოქსიკურობის განსაზღვრა კურდღელზე კანის სინჯის მიხედვით.

2.11. ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა.

2.12. ორგანული ტოქსიკანტების ასიმილაციის უნარის დადგენა.

2.13. ექსპერიმენტული მონაცემების დამუშავების ელემენტარული მათემატიკური ფორმულა.

თავი III. მიღებული შედეგები და მათი განსჯა.

3.1საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოები.

3.2 კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გამოყოფა და იდენტიფიკაცია.

3.3. ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოები.

3.4. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა.

3.5. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა ტემპერატურის მიხედვით.

3.6. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ჰალოფილობის ხარისხის დადგენა.

3.7.საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემიფილობის ხარისხის დადგენა pH-ის მიხედვით.

თავი IV. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ბიოტექნოლოგიური შესაძლებლობების შესწავლა.

4.1. ამილაზების, ცელულაზების, ქსილანაზებისა და პროტეაზების პროდუცენტების შერჩევა.

4.2.ორგანული ტოქსიკანტების ასიმილაციის უნარის მქონე ჰალოფილური კულტურები.

დასკვნები.

გამოყენებული ლიტერატურა.

შ ე ს ა ვ ა ლ ი

ჩვენი პლანეტის უძველეს ბინადრებს – ჰალოფილებს ''ფიზიოლოგიური შესაძლებლობის ზღვარზე მცხოვრებ ფორმებს'' უწოდებენ. მიკროორგანიზმთა ეს ჯგუფი გარემოს უკიდურესად ექსტრემალურ პირობებს შეეგუა მძლავრი ანტიოქსიდანტური და მაღალეფექტური დამჟანგავი სისტემის ჩამოყალიბებით. ჰალოფილებს ციტოპლაზმური მემბრანის თვისებებზე დამყარებული რთული უჯრედშიგა რეგულაციის მექანიზმი, გარემოს მარილიანობის ცვლილებებზე სწრაფი ადაპტაციის საშუალებას აძლევს. მათ ბუნებაში პრაქტიკულად არ მოეპოვებათ

კონკურენტი, არც ანტაგონისტი, რადგან სიცოცხლის ვერცერთი ფორმა ვერ ახერხებს მარილის მაღალ კონცენტრაციებზე არსებობას.

დამაზიანებელი ფაქტორების მიმართ მდგრადობა, უნიკალური ქიმიური შემადგენლობა, მდიდარი ბიოპოტენციალი და არაპათოგენურობა განსაზღვრავს ჰალოფილების ჩართვის პერსპექტივას ბოიტექნოლოგიურ პროცესებში მარილის მოყვარე ორგანიზმის უჯრედი შეიძლება განხილული იქნას, როგორც ''ცოცხალი, ბიოლოგიური ლაბორატორია'', რომელიც ერთდროულად რამდენიმე ძვირფასი კომერციული პროდუქტის (ნუკლეინის მჟავების, ვიტამინების, ცილების, სხვადასხვა ფერმენტების, კაროტინების, ლიპიდების, გლიცერინის და ა.შ.) მიღების საშუალებას იძლევა. ჰალოფილების მიერ სინთეზირებული ბეტოინი და ექტოინი ცოცხალ უჯრედებსა და ბიოლოგიურ მოლეკულებს იცავს გარემოს აგრესიული ზემოქმედებისაგან (გაყინვა-გალღობა, გაშრობა და ა.შ.). ეს ნაერთები, ამავე დროს მთელი რიგი ძვირადღირებული ფერმენტების (ლაქტატდეჰიდროგენაზა, ფოსფორ-ფრუქტოკინაზა და სხვ.) სტაბილიზატორებსაც წარმოადგენენ.

ჰალოფილების მრავალი წარმომადგენელი ამჟღავნებს ნავთობგადამამუშავებელი და ქიმიური მრეწველობის სხვადასხვა ტოქსიკური ნარჩენების დეგრადაციის უნარს, რის გამოც დღეს ჰალოფილებს განიხილავენ, როგორც ანთროპოგენული ფაქტორებით დაბინძურებული გარემოს პოტენციურ "სანიტრებს". უცხო მიკროფლორით დაბინძურების მინიმალური რისკი მარილისმოყვარე მიკროორგანიზმების სამრეწველო მიზნით გამოყენების შესაძლებლობას კიდევ უფრო პერსპექტიულად წარმოაჩენს.

მდიდარი ბიოპოტენციალის მიუხედავად ამჟამად ბიოტქნოლოგიურ პროცესებში ჰალოფილები ნაკლებადაა რეალიზებული. ამავე დროს მსოფლიოში არსებული ჰალოფილური მიკროორგანიზმების კოლექციები ძირითადად არქეებითა და ბაქტერიებითაა წარმოდგენილი. აღნიშნულიდან გამომდინარე, აქტუალური ხდება ჰალოფილების ძიება მიკროორგანიზმთა სხვა ჯგუფებს, განსაკუთრებით კი _ მიკროსკოპულ სოკოებს შორის, რომლებიც პროკარიოტებთან შედარებით ხასიათდებიან გენეტიკური ინფორმაციის ფართო სპექტრით და შეუძლიათ, აწარმოონ მრავალფეროვანი მიკრობული გარდაქმნები.

ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების სელექციის თვალსაზრისით დიდ ინტერესს იწვევს საქართველოს მარილიანი ნიადაგები და ტბები, რომელთა მიკოფლორა სადღეისოდ პრაქტიკულად შეუსწავლელია.

კვლევის მიზანი და ამოცანები:

სამუშაოს მიზანს შეადგენდა საქართველოს მარილიან ნიადაგებსა და ტბებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების კოლექციის შექმნა. დასახული იქნა შემდეგი ამოცანები:

- კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკეების მარილიან ნიადაგებსა და ტბებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გამოყოფა და იდენტიფიკაცია;
- იდენტიფიცირებული მიკროსკოპული სოკოების ცალკეული გვარის ეკოლოგიის შესწავლა;
- საქართველოს მარილიან ნიადაგებსა და ტბებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა – ჰალოფილური კოლექციის შექმნა;
- შექმნილ კოლექციაში მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილების გამოვლენა;
- ჰალოფილურ მიკროსკოპულ სოკოებს შორის ფერმენტების (ცელულაზას, ქსილანაზას, ამილაზასა და პროტეაზას) აქტიური პროდუცენტების შერჩევა.
- ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების კოლექციაში ორგანული ტოქსიკანტების დეგრადაციის უნარის მქონე კულტურების გამოვლენა.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე:

ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკეების მარილიანი ნიადაგებიდან და ტბებიდან გამოყოფილი და იდენტიფიცირებულია 96 განსხვავებული სახეობის ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკო. პირველადაა ნაჩვენები აღნიშნულ რეგიონებში მიკროსკოპული სოკოების ცალკეული გვარის გავრცელების კანონზომიერება და განსაზღვრულია დამახასიათებელი დომინანტი გვარები.

გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენის მიზნით შესწავლილია ექსტრემალური ფაქტორების (NaCl -ის სხვადასხვა კონცენტრაცია, უკიდურესი pH და ტემპერატურა) გავლენა საკვლევი ობიექტების ზრდის ინტენსივობაზე. ცალკეული მიკროსკოპული სოკოსათვის განსაზღვრულია pH–ის, ტემპერატურისა და NaCl-ის კონცენტრაციებისადმი მდგრადობის სასიცოცხლო საზღვრები და დაგენილია მათი ოპტიმალური სიდიდეები. ამრიგად, ჩატარებული სამუშაოს საფუძველზე პირველადაა შექმნილი ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკეების მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების კოლექცია.

ჰალოფილურ კოლექციაში შერჩეულია მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილები; სხვადასხვა ფერმენტების (ცელულაზას, ქსილანაზას, ამილაზასა და პროტეაზას) აქტიური, ახალი პროდუცენტები და ორგანული ტოქსიკანტების დეგრადაციის უნარის მქონე ექსტრემოფილური მიკროსკოპული სოკოები.

ნაშრომის პრაქტიკული ღირებულება:

ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების ისეთი კოლექციის შექმნას, სადაც წარმოდგენილი იქნება საქართველოს მარილიანი ნიადაგებისა და ტბებისათვის დამახასიათებელი მიკრომიცეტების გენოფონდი, სამრეწველო და სამეცნიერო თვალსაზრისით დიდი პრაქტიკული ღირებულება აქვს: კოლექციის კულტურებს შორის შერჩეულია ექსტრემალურ პირობებში მზარდი ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები, რომელთა შორის გვხვდება არა მარტო ფერმენტების (ცელულაზას, ქსილანაზას, ამილაზასა და პროტეაზას) აქტიური პროდუცენტები, არამედ _ სხვადასხვა ორგანული ტოქსიკანტების დეგრადაციის უნარის მქონე კულტურებიც.

ექსტრემალურ რეჟიმში მოქმედი, სტაბილური ფერმენტების ტექნოლოგიურ პროცესებში ჩართვა თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის უმნიშვნელოვანესი პრობლემის გადაჭრის საწინდარია.

ლიტერატურის მიმოხილვა

თავი I

1.1. ჰალოფილური მიკროორგანიზმები

უკანასკნელი ათწლეულის განმავლობაში, ნანოტექნოლოგიების სწრაფი განვითარების წყალობით ინტენსიურად მიმდინარეობს იმ უნიკალური ტექნოლოგიების გამოვლენა, რომელიც ბუნების მიერ შეიქმნა ევოლუციური განვითარების ხანგრძლივ პროცესში.ექსტრემალური გარემოსადმი ცოცხალი ორგანიზმების ადაპტაციის მექანიზმების კვლევა უჯრედული ბიოლოგიის, მიკრობიოლოგიის, ბიოტექნოლოგიისა და თანამედროვე მედიცინის აქტუალურ პრობლემას წარმოადგენს. (19,43,90,125) ამ მხრივ მეტად საინტერესოა ბიოცენოზის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი პარამეტრი –მარილიანი გარემო და მისი ბინადარი-ექსტრემოფილური მიკროორგანიზმების განსაკუთრებული ჯგუფი-ჰალოფილები (100, 114,116). მათ მიერ სინთეზირებული ბიოპოლიმერები ასრულებენ რა ურთულეს ფუნქციებს, თავისთავად წარმოადგენენ უნიკალურ "ბუნებრივ ტექნოლოგიებს". არსებობს ჰიპოთეზა იმის თაობაზე, რომ ჰალოფილების უძველესმა ფორმებმა მლაშე გარემოსთან ადაპტაციის პროცესში დაკარგა უჯრედული მემბრანის ყველაზე მტკიცე გარსი და ამ გზით მოახერხა თავდაცვა გარემოს აგრესიისაგან. ამავე მოსაზრების მიხედვით, ჰალოფილების ევოლუცია ჟანგბადის ნაკლებობისა და ულტრაიისფერი გამოსხივების ფონზე წარიმართა. ექსტრემალური ფაქტორების ერთობლივი ზემოქმედებისაგან თავდაცვა "პირველმა ჰალოფილებმა" მაღალეფექტური, მძლავრი ანტიოქსიდანტური სისტემების ჩამოყალიბებით შეძლო. ეს ჰიპოთეზა ერთგვარად ხსნის იმ ფაქტს, რომ ჰალოფილების მრავალი წარმომადგენელი რეზისტენტულობას ავლენს არა მხოლოდ მარილის, არამედ რადიაციის მაღალი დოზების მიმართაც.

1962 წელს, ლარსენმა მიკრობული სამყარო "მარილის მიმართ ტოლერანტულობის" მიხედვით დაყო რამოდენიმე ქვეჯგუფად:

1. არა ტოლერანტული მიკროორგანიზმები, რომლებიც იზრდებაNNaCl-ის არაუმეტეს 1% კონცენტრაციაზე;
2. სუსტი ტოლერანტულები-იზრდება NaCl-ის 6-8%- თანაობისას;
3. ექსტრემალური ტოლერანტულები, რომლებიც იზრდება NaCl-ის როგორც არარსებობის, და ასევე მისი ნაჯერი ხსნარის კონცენტრაციის პირობებში (76).

მოგვიანებით, 1983 წელს კუშნერის მიერ შემოთავაზებულ იქნა ახალი კლასიფიკაცია, რომელიც ეყრდნობოდა “მარილის მოხმარების სიდიდეს” (ჰალოფილობას). აღნიშნული პარამეტრის მიხედვით მიკროორგანიზმები დაიყო სამ ძირითად ჯგუფად:

1. არაჰალოფილები-იღუპება საარსებო გარემოში NaCl –ის 1-დან 3%-მდე კონცენტრაციის პირობებში;
2. სუსტი ჰალოფილები-არსებობისათვის საჭიროებს 2-დან 5%-მდე NaCl-ს;
3. ექსტრემალური ჰალოფილები – ზრდა-განვითარებისათვის მოითხოვს 20-30% NaCl-ს (70).

ლარსენის მიერ შემოღებულ იქნა სხვა ტერმინებიც: მარილდამოკიდებული“, “ჰალოტოლერანტული”, ”ჰალოფობური”, “ობლიგატური ჰალოფილი” და სხვ (73, 74,75,77). მიუხედავად ამისა, კლასიფიკაციის ორივე ფორმა მაინც პირობით ხასიათს ატარებს. A ასე მაგალითად , ნეიტროფილური ექსტრემალური ჰალოფილებისათვის NaCl-თან ერთად აუცილებელია არეში Mg^{+2}-ის (0,1-0,5 mM არსებობაც, რომლის დეფიციტის შემთხვევაში ჰალოფილები კარგავს ჩხირისებურ ფორმას და იღებს სფეროს ფორმას. ცნობილია, რომ მკვდარი ზღვიდან გამოყოფილი *Halobacterium volcanii* Mg^{+2} იონებისადმი მნიშვნელოვანი ტოლერანტულობით (0,2-1,5 mM-მდე) ხასიათდება, მაშინ როდესაც ტუტოვანი მლაშე ტბების ბინადარი *Natronobacterium*-ისა და *Natronococcus*-ის გვარის ჰალოალკალიფილური შტამებისთვის Mg^{+2}-ის იონების 10 mM კონცენტრაციაც კი მაინჰიბირებელია (91).

ყველა ექსტრემალური და ზომიერი ჰალოფილის საერთო თვისებას NaCl-ისადმი მოთხოვნილება და რეზისტენტულობა წარმოადგენს.აღნიშნული პარამეტრები ინდივიდუალურია ცალკეული სახეობისთვის და ცვლადი - ტემპერატურის მიხედვით(70). მაგალითად, 22^0C- ზე კულტივირებისას *Halomonas halophilia*-სთვის NaCl-ის ოპტიმალური კონცენტრაცია 5%-ს შეადგენს, მაშინ როდესაც 32^0C დან 42^0C-მდე ტემპერატურულ დიაპაზონში აღნიშნული მახასიათებელი 7,5%-ს აღწევს (112).ამავე გვარის სხვა სახეობა - *H.elongata* 20^0C -დან 30^0C –მდე ინკუბაციის პირობებში 0,05 M-დან 3,4 M -მდე NaCl-ს მოითხოვს. კულტურა აღარ იზრდება 40^0C –ზე 0,05M NaCl -ის თანაობისას.აღნიშნულ ტემპერატურაზე *H.elongata* ზრდას იწყებს მხოლოდ იმ შემთხვევაში, თუ მარილის კონცენტრაცია გაიზრდება 0,375M-მდე და რეზისტენტული აღმოჩნდება NaCl –ის

კიდევ უფრო მაღალი დოზის -4,5 M –ის მიმართ (141). Aამრიგად, თუ ჰალოფილების ზრდის ტემპერატურულ დიაპაზონში შესწავლილი იქნება მარილისადმი მათი მოთხოვნილების დიაპაზონიც, ეს უკანასკნელი გაცილებით ფართო აღმოჩნდება, ვიდრე - ოპტიმალურ ტემპერატურაზე დადგენილი მდგრადობის დიაპაზონი.

ჰალოფილიზმის მოვლენა ფართოდაა გავრცელებული როგორც პროკარიოტებს, ასევე- ეუკარიოტებს შორის. თუმცა, მიკრობულ სამყაროში ჰალოფილობის ხარისხით ლიდერობს ცოცხალი სამყაროს "პირველადი სამეფოს "- არქებაქტერიების ერთ-ერთი ძირითადი ჯგუფი -ჰალობაქტერიები. ეს მიკროორგანიზმები არ მიეკუთვნება არც ჭეშმარიტ ბაქტერიებს, არც –ეუკარიოტებს. ცოცხალ სამყაროში მათი ადგილი და როლი დღესაც განსაკუთრებული მსჯელობის საგანს წარმოადგენსჰიპერმლაშობების მიკრობიოლოგიური კვლევის დასაწყისში ინტენსიური შესწავლის ობიექტს სწორედ წითელი ჰალობაქტერიები წარმოადგენდა. ამ მიკროორგანიზმთა მიმართ მკვლევართა განსაკუთრებული ინტერესი მათი ჰიპერჰალოფილურობით აიხსნებოდა. ცნობილია რომ, წითელი არქეები ზრდა-განვითარებისათვის 20-30% NaCl-ს საჭიროებს. ექსტრემალუარი ჰალოფილებისათვის NaCl ამავე დროს მარილის შეუცვლელ წყაროსაც წარმოადგენს საარსებო გარემოში NaCl-ის კონცენტრაციის 15%-მდე შემცირების შემთხვევაში მათი უჯრედი დესტრუქციას განიცდის (70,76,77). Bბერჯეს ბაქტერიების სარკვევის მე-9 გამოცემაში ეს ექსტრემალური ჰალობაქტერიები გაერთიანებულია *Halobacteriaceae*-ს ოჯახში და 20-მდე სახეობას მოიცავს(4).

პირველი ცნობები ჰალობაქტერიების შესახებ ეკუთვნის ბაას –ბეკინგს(24), რომელიც თანამშრომლებთან ერთად აკვირდებოდა მარილგადამამუშავებელი საწარმოების ნედლეულებს. მზის სხივების ინტენსიური ზემოქმედებით გამოწვეული აორთქლების შემდეგ მარილის კრისტალებზე რჩებოდა წითელი ფერის ლაქები. პიგმენტის წარმოქმნა ბეკინგმა იმ დროისათვის უცნობ, მარილისმოყვარულ მიკროორგანიზმებს დაუკავშირა.

1957 წელს სკოტმა(119) და ინგრემმა (58) ყურადღება მიაქციეს იმ გარემოებას, რომ დამარილებული ტყავისა და მლაშე პროდუქტების გაფუჭებას იწვევდა წითელი შეფერილობის ჰალოფილური მიკროორგანიზმები. 1963 წელს იაპონელმა მეცნიერებმა ონიშმა და კამეკურამ (98) დამარილებული სოუსიდან გამოყვეს წითელი ფერის ჰალობაქტერიები, რომლებსაც NaCl-ის ნაჯერ ხსნარებზე შეეძლოთ არსებობა.

მოგვიანებით, 1987 წელს ლონგვორტის ჯგუფის მიერ დადგინდა, რომ ჰალობაქტერიებისათვის დამახასიათებელი წითელი შეფერილობა განპირობებულია უჯრედის მემბრანაში კაროტინოიდული პიგმენტის –ბაქტერიორუბერინის არსებობით(80,81). დუნდასი აღნიშნავს რომ, ჰალობაქტერიებისათვის ეს პიგმენტი ინტენსიური განათების პირობებში დამცველობით ფუნქციას ასრულებს(44).

დიდი ხნის მანძილზე მკვლევართა ყურადღების მიღმა რჩებოდა უპიგმენტო ჰალობაქტერიები, რომლებიც წითელი არქეებისაგან განსხვავებით, იზრდებოდნენ NaCl-ის ფართო კონცენტრაციების დიაპაზონში (0-დან 25%-მდე). ფევრი ჯერ კიდევ 1919 წელს, "ზღვის წყლის მიკრობიოლოგიური დუღილის პროცესის" შესწავლისას მიუთითებდა ჰალოტოლერანტული არქეების უპიგმენტო სახეობების არსებობაზე (78).

გასული საუკუნის 70-80-იანი წლებიდან ბუნებრივ ბიოცენოზში განსაკუთრებული ინტენსიობით დაიწყო ჰალოფილების გავრცელების არეალისა და პოპულაციის დინამიკის შესწავლა. Hჰალოფილები გამოყოფილ იქნა სომალის ასსალის ტბიდან (29), ჩინეთისა და ესპანეთის მლაშე ტბებიდან (50, 145), სხვადასხვა ზღვებიდან (ლაფერ 69,115), ანტარქტიდის მშრალი ველებიდან (86) და მლაშე ტბებიდან (47) და ასევე სხვადასხვა გეოგრაფიული რეგიონებიდან (89, 126, 128,135). ჰალოფილების გამოყოფა წარმოებდა მარილსახდელი ქარხნების მარილხსნარებიდან ავსტრალიის ტრიასებიდან(96), იაპონიის ჰალიტებიდან (127), თურქმენეთის არიდული ნიადაგებიდან (9), თათარსტანის ნავთობსაბადოს მიმდებარე ტერიტორიებიდან (8).

ამ პერიოდის მნიშვნელოვან აღმოჩენას წარმოადგენდა მლაშობ (კარბონატულსა და სულფატურ) გეოცენოზში ჰალოფილური მიკროორგანიზმების არსებობის დადასტურება. Mმანამდე მკვლევართა უმრავლესობას მიაჩნდა ,რომ ჰალოფილებს არ შეეძლოთ მლაშობ ნიადაგებში არსებობა, რადგან განსაზღვრულ სეზონზე ,ატმოსფერული ნალექებით ჩარეცხვის შედეგად, ნიადაგის ზედა ფენებში მარილის კონცენტრაცია მკვეთრად კლებულობს. ასეთ პირობებში ჰალოფილები უნდა იღუპებოდნენ. სხვა მეცნიერები გამოთქვამდნენ მოსაზრებას, რომ მარილიან ნიადაგებში ჰალოფილური მიკროორგანიზმები საერთოდ მოკლებულია გამრავლების უნარს, რომ ისინი წარმოადგენენ მლაშობების პასიურ ბინადრებს, ქარით ტრანსპორტირებულს არამლაშობი რეგიონებიდან. მოგვიანებით, ორივე

მოსაზრება უარყოფილ იქნა რუსი მეცნიერების –ზვიაგინცევისა და ტარასოვის მიერ, რომლებმაც შეისწავლეს ყაზახეთის, უზბეკეთის, თურქმენეთის, ვოლგისპირეთის, მთიანი პამირის, სამხრეთ უკრაინისა და სხვა ქვეყნების სულფატური მლაშობები, და დაასკვნეს, რომ ექსტრემალური ჰალობაქტერიები მლაშე გეოცენოზების ერთ-ერთ მნიშვნელოვან კომპონენტს წარმოადგენს(7).

ჰალოფილების სელექციის თვალსაზრისით განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს ჰიპერმარილიანი რეგიონები. დახასიათებულია ჰიპერმლაშობური გარემოს ორი ძირითადი ტიპი: AAtalazohalin-ური და Thalazohalin-ური. პირველი ტიპის ეკოსისტემაში იონურ შემცველობას განსაზღვრავს წყლის ირგვლივ არსებული გარემოს გეოლოგიური თავისებურება. დადგენილია, რომ AAtalazohalin-ში დომინირებს Mg^{+2}ის იონები. იუტას დიდი მარილიანი ტბა, მკვდარი და წითელი ზღვები, ატაჰამას მარილიანი ტბები (ჩილე) -ამ სახის ჰიპერმლაშობთა ტიპიურ მაგალითს წარმოადგენენ. მათგან განსხვავებით, Thalazohalin-ურ სისტემაში დომინანტურია Na^{+}- ისა და Cl^{-}-ის იონები. ეს ჰიპერმლაშობი ფორმირებულია ზღვის წყლის აორთქლების შედეგად და ცნობილია მზის მლაშობის სახელწოდებით. მალიორკა და სანტა–პოლა ალიკანტეში (ესპანეთი), სალინას ჩიკა არგენტინაში, სან-ფრანცისკოს ყურე (აშშ), ზვიგენის ყურე (ავსტრალიაში), კაბო როჯო (Pპუერტო რიკოში), ეილათი –ისრაელში და სლოვენიის მზის მლაშობები - Thalazohalin-ური სისტემის ტიპიური მაგალითებია. ორივე სახის ჰიპერმლაშობისათვის დამახასიათებელია ნეიტრალურთან მიახლოებული pH. ჰიპერმარილიან რეგიონებს მიეკუთვნება ნატრიუმის კარბონატული ტბებიც, სადაც მარილის მაღალ კონცენტრაციას თან ერთვის pH –ის მაღალი მნიშვნელობა. ასეთ ალკანურ წყლებად ითვლება Bear Soda lak- ი (ჩინეთში) და MManyar Lak (აფრიკაში) (42).

ჰიპერმლაშობური გარემოს ტიპიურ მახასიათებელს არქებაქტერიების არსებობა წარმოადგენს (106). უკანასკნელი ათწლეულის მანძილზე Thalazohalin-ური სისტემიდან გამოყოფილია *Haloterrigena* –ას; *Haloferax*-ისა და *Haloarkula*-ას გვარის არქეების ახალი სახეობები(87). მონტალვო-როდრიგესის სამეცნიერო ჯგუფის მიერ ამავე გარემოდან იდენტიფიცირებულია და დახასიათებული არქებაქტერიების სრულიად ახალი გვარი- *Halogeometricum* (88).ჰალობაქტერიები გამოყოფილია იუტას შტატის დიდი მარილიანი ტბიდანაც. აღნიშნავენ, რომ Atalazohalin-ური ტიპის ამ ჰიპერმლაშობმა უკანასკნელი ათწლეულის მანძილზე მარილის შემცველობის

მიხედვით მნიშვნელოვანი ცვლილებები განიცადა. აქ ყველგან გვხვდებოდა წითელი ფერის არქეებისა და მწვანე წყალმცენარე – Dunaliella-ს თანასაზოგადოებები (104,108,109).ბოლო დროინდელმა კვლევებმა ცხადყო, რომ ექსტრემალური წითელი არქეები ძირითადად ტბის ჩრდილოეთით "განაწილდა", ზომიერმა ჰალობაქტერიებმა კი სამხრეთი ნაწილი "დაიკავა" (45,122). ზომიერი ჰალობაქტერიები გამოყვეს მკვდარი ზღვიდანაც, მაგრამ ამ ქლორიდული ტბის მიკროფლორის სისტემატიკური აღწერა დღემდე არაა ჩატარებული (102,138).

დადგენილია, რომ ასსალის ტბის (სომალი) ზედა ფენებში მარილის კონცენტრაცია 27,7%-ს შეადგენს, ხოლო 20მ სიღრმეზე -39,8%-საც აღწევს. ამ ჰიპერმლაშობის მიკრობიოლოგიური შესწავლა ჩატარებულ იქნა 1974 წელს ბრისოუს კვლევითი ჯგუფის მიერ.

გამოყოფილ კულტურებს შორის ნაკლები სიხშირით გვხვდებოდა ექსტრემალური ჰალოფილური არქეები, კოლექციის უმრავლესობას კი სუსტი და ზომიერი ჰალობაქტერიები შეადგენდენ. ეს იყო მოულოდნელი შედეგები, რადგან მარილის მაღალი კონცენტრაციისა და ტემპერატურის გამო სომალის ტბა უფრო მისაღები გარემო უნდა ყოფილიყო ექსტრემალური არქეებისათვის, ვიდრე-ზღვის სუსტი და ზომიერი ტიპის ჰალობაქტერიებისათვის. ამავე დროს, ასსალიდან გამოყოფილი ექსტრემალური ბაქტერიები არ მრავლდებოდა მარილის იმ კონცენტრაციებზე, რაც ამ ტბისთვისაა დამახასიათებელი. აღნიშნული ეკოსისტემის ანალოგიურია ანტარქტიდაში არსებული დონ-ჟუანის ტბორი, რომელიც არ იყინება და ფაქტიურად KCl –ის ნაჯერ ხსნარს წარმოადგენს. ჰოროვიცი ამტკიცებს, რომ ჰალოფილები ორივე შემთხვევაში გარე დინებებიდან იქნა შეტანილი (30).

ჰიპერმლაშობებში ჰალობაქტერიებთან ერთად აღმოჩენილია პროკარიოტების წარმომადგენლები, კერძოდ ჩილის Atalazohalin_ური ეკოსისტემის –(ატაკამას მლაშობის) მიკრობიოლოგიური კვლევის საფუძველზე გამოყოფილია ჭეშმარიტი ბაქტერიების - *Halorubrum* –ის გვარის ახალი სახეობები (79), ხოლო Talazohalin-ური გარემოდან- *Thermohalobacter*-ისა (36) და *Salinibacter* –ის ახალი გვარები (23). ამჟამად ჰიპერმლაშობური წყლებიდან მიღებულია პროკარიოტების ახალი სახეობების უზარმაზარი ჩამონათვალი.

ძალზედ მწირია ინფორმაცია ჰიპერმარილიან ექსტრემალურ გარემოში ეუკარიოტული მიკროორგანიზმების არსებობის შესახებ. ორენს, პედრუს-ალიუსს და

სხვა მკვლევარებს მიაჩნიათ, რომ ეუკარიოტები უფრო მძიმედ ეგუებიან ჰიპერმლაშობურ წყლებს, ვიდრე –მარილიან ნიადაგებს(105,107). თუმცა, ლიტერატურაში მაინც მოიძებნება პუბლიკაციები, რომლებიც ფაქტობრივი არგუმენტებით ასაბუთებენ ჰიპერმლაშობურ წყლებში ეუკარიოტული მიკროორგანიზმების გავრცელებას. ჯერ კიდევ 1977 წლიდან ცნობილი იყო იუტას დიდ მარილიან ტბაში ჰალობაქტერიების არსებობა (104,108,109). კრონინმა და პოსტმა 1977წელს პირველად განაცხადეს Atalazohalin-ური ტიპის ამ ჰიპერმლაშობში ჰალოფილური სოკოების არსებობის შესახებ. Aამ მკვლევარებმა ტბაში ჩაძირული ფიჭვის ნაფოტიდან გამოყვეს *Cladosporium*-ის გვარის ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკო (38). ერთი წლის შემდეგ ამავე ტბაში აღმოაჩინეს *Thraustochytrium*-ის გვარის არამიცელიალური სოკოებიც (20).მოგვიანებით დადგინდა,რომ იუტას ტბაში ბინადრობენ საფუვრებიც. ამ ჯგუფის ერთ-ერთი სახეობა-*Debaryomyces hansenii* აღმოჩენილია არა მარტო იუტას ტბაში, არამედ-ატლანტიკის ოკეანის მლაშობშიც, ნამიბიაში (33).

1979წელს კოლმეიერებმა ზღვის წყლიდან მიიღეს მრავალი ჰალოტოლერანტული სოკო (68) 1982წელს მიცელიალური სოკოები აღმოაჩინეს კარიბის ზღვასა და წყნარ ოკეანეშიც (59). კოლმეიერის სამეცნიერო ჯგუფი წლების განმავლობაში იკვლევდა წყნარი ოკეანის მარჯნის რიფებში არსებულ მიკროსკოპულ სოკოებს. მკვდარი მარჯნიდან ამ მკვლევარებმა გამოყვეს მიკრომიცეტების სხვადასხვა სახეობები- *Halographis runika; Endolitic lichenoid; Corallicola nana; Xenus lithophylli* და *Lulworthia calcicola*. უკანასკნელი ორი კულტურა მარჯნის პარაზიტი აღმოჩნდა. კარიბის ზღვის წყლიდან, ასევე - ფლორიდან და ფაუნიდან გამოყოფილია *Aspergillus*-ისა და *Cladosporium*-ის "ხმელეთის " წარმომადგენლებიც. ეს გვარები ჩვეულებრივ დამახასიათებელია ნიადაგებიდან აღებული ნიმუშებისათვის(65,66,67).

მკვდარ ზღვაში არსებული მიცელიალური სოკოების ახალი სახეობები აღწერილია ბუჩალოს სამეცნიერო ჯგუფის მიერ. დახასიათებულია ობლიგატური ჰალოფილი- *Gymnascella marismortui (Ascomycota*). ამ მიკრომიცეტის ზრდის ოპტიმალურ პირობას წარმოადგენს 10-30%-მდე მარილის შემცველი მკვდარი ზღვის წყალი. ამავე ჯგუფის მიერ მკვდარი ზღვიდან გამოყოფილ იქნა *Gymnascella*-ს სხვა სახეობაც, რომელიც 26^{0}C-ზე კულტივირებისას ტოლერანტობას ამჟღავნებდა NaCl-ის 3-15%-მდე კონცენტრაციის მიმართ (32). აღწერილი და დახასიათებულია მკვდარი

ზღვის ბინადარი მიკროსკოპული სოკოების სხვა სახეობებიც- *Aspergillus versicolor,Chaetomium globosum,Eurotium herbariorum,Eurotium amstelodami*AEდა *Eurotium rubrum* კის-პაპო თანამშრომლებთან ერთად იკვლევდა ჰალოფილური *Aspergillus versicolor* –ის სხვადასხვა შტამებს და დაადგინა რომ მკვდარი ზღვის ბინადარი ამ მიკრომიცეტის გენომის მრავალფეროვნება ჰიპერმარილიანი გარემოს "ზეწოლის" შედეგს წარმოადგენს (62,63).

ამავე ეკოსისტემიდან სხვა მკვლევარების მიერ გამოყოფილია *Trichosporon mucoides, Rhodotorula larynges,Candida glabrata-და Candida atmosphaerica* (34). ეს უკანასკნელი სახეობა გამოყოფილია სხვა ექსტრემალური გარემოდანაც, კერძოდ - ზღვის ჰიდროთერმალური სისტემიდან. პროკარიოტული სამყაროდან მკვდარ ზღვაში პირველად აღმოჩენილ იქნა უპიგმენტო ბაქტერიები –*Chromohalobacter marismortui* და *Halomonas halmophilia*, რომლებიც იზრდებოდნენ 29% NaCl-ის კონცენტრაციის პირობებში მოგვიანებით ამავე გარემოდან გამოყოფილ იქნა *Halomonas israelensis* (57,136).

"Atalazohalin"-ურ სისტემას წარმოადგენს კაროლინას მლაშე ტბა - Mono lake-,რომელიც მარილის შემცველობის მიხედვით მკვდარი ზღვის მსგავსია. მასში შემავალი მინერალების ერთობლიობა წარმოქმნის განსაკუთრებულ მინერალურ ფორმაციას, რაც ნიშანდობლივია ამ ჰიპერმლაშობისათვის. 2003 წელს სტეიმანის კვლევითი ჯგუფის მიერ ჩატარებულ იქნა კაროლინას ტბის მიკრობიოლოგიური შესწავლა. იდენტიფიცირებულია ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების ფართო სპექტრი, კერძოდ შემდეგი გვარების წარმომადგენლები –*Aspergillus, Achaetomium, Acremonium, Alternaria, Chaetomium, Cunninghamella, Ulocladium, Embellisia, Fusarium, Phoma, Sporothrix, Penicillium, Papulaspora, Geotricum, Curvularia, Mucor, Phialaphora, Phaeroamularia, Sporomiella და Thelebolus.* აღსანიშნავია, რომ ლაბორატორიულ პირობებში M(ტბის შემადგენლობის იდენტურ ტუტე არეზე) ვერ მოხერხდა კულტურების გამოყოფა.როგორც ჩანს, ამ ჰიპერმლაშობისთვის დამახასიათებელი ექსტრემალური მარილიანობა და pH არახელსაყრელი პირობებია მიკროსკოპული სოკოების გამრავლებისათვის. სავარაუდოა, რომ ისინი ტბაში არსებობენ სპორების სახით (42).

"Talazohalin"-ური ტიპის ჰიპერმლაშობი - კაბო როჯო (პორტუგალია) წარმოადგენს ზღვის წყლის აორთქლების შედეგად ფორმირებულ მლაშობს, სადაც

მიმდინარეობს მარილის მიღება კომერციული მიზნებისათვის. ამჟამად მთელი მსოფლიოს მკვლევართა ინტენსიური შესწავლის საგანს წარმოადგენს Aამ "არასტუმართმოყვარული" ეკოსისტემისთვის დამახასიათებელი მრავალფეროვანი პროკარიოტული მიკროფლორა. მხოლოდ რამოდენიმე ავტორი თუ მოიხსენიებს ამ ექსტრემალურ რეგიონში არსებულ მიცელიალურ სოკოებს. სულ ახლახან, 2006 წელს (42) გრიდჩენის სამეცნიერო ჯგუფის მიერ ჩატარებულ იქნა პორტუგალიის ამ ჰიპერმლაშობის მიკოფლორის დეტალური კვლევა. ალაოს ღივებისა და კარტოფილის დექსტროზის შემცველ საკვებ არეებზე , NaCl-ის 15%-ის თანაობისას გამოყოფილ იქნა 8 განსხვავებული გვარის 17 სახეობის მიკრომიცეტი- *Alternaria, Aspergillis elegans,.Aspergillus sydowii, Aspergillus terreus,.Aspergillus versicolor ,.Aspergillus oryzae, Aspergillus japonicus, Aspergillus niger, Cladosporium cladosporioides,Cladosporium sphaerospermum, Eurotium amstelodami,Penicillium chrysogenum, Penicillium exspansum* და *Stemphylium* sp., ასევე-შავი საფუარი -*Hortea wernecki* და - დიმორფული საფუვრების უცნობი სახეობები. შექმნილი კოლექციის უმრავლესობა ტოლერანტობას ამჟღავნებდა NaCl- ის 30%-ზე მაღალი კონცენტრაციის მიმართ. *Aspergillus*-ის გვარის სახეობების მრავალფეროვნებასთან ერთად კაბო როჯოს ჰიპერმლაშობში გამოვლენილია სხვა ასკომიცეტები და ბაზიდიალური სოკოების წარომადგენლებიც (42). "Talazohalin"-ური ტიპის მზის მლაშობებს მიეკუთვნება "ალიკანტეც" (ესპანეთი). ამ ეკოსისტემაში, სადაც NaCl- ის კონცენტრაცია 2,4-დან 12,7%-მდე ვარირებს, აღმოჩენილია ჭეშმარიტი ბაქტერიების სახეობები, რომლებიც წყლით გარემოცული არცერთი ჰიპერმლაშობისთვის არაა დამახასიათებელი. აქ განსაკუთრებით მაღალი სიხშირით გვხვდება *Alcaligenes, Acinetobacter, Flavobacterium* და *Pseudomonas*-ს გვარები, ასევე გამოვლენილია ჰალოტოლერანტული, გრამ-დადებითი ბაქტერიებიც. შექმნილი კოლექციის უმრავლესობა ოპტიმალური ზრდისთვის 5-დან 10%-მდე NaCl-ს მოითხოვს, თუმცა იზრდება მარილის შედარებით დაბალ კონცენტრაციაზეც 0,5-დან 2%-მდე). ამ შედეგების შესაძლო ახსნას უნდა წარმოადგენდეს ეკოლოგიური განსხვავება წყალსა და ნიადაგს შორის: უკანასკნელის მიკროფლორა, წყალთან შედარებით უფრო ხშირად ექვემდებარება ნიაღვრებით გამოწვეულ ცვლილებებს (110,111).

შესწავლილია პარგუერას (Pპუერტო რიკო) სანაპირო ზოლის მიკოფლორა. ქვიშის სინჯებში განსაკუთრებით მაღალი სიხშირით გვხვდებოდა *Cephalosporium*-

ის; *Diplodia*- ს; *Fusarium*- ის; *Helmithosporium*-ის; *Penicillium*-ის; *Trichoderma* – ს; *Scopulariopsis*- სა და *Pleospora*- ას გვარის მიკროსკოპული სოკოები ერთი წლის შემდეგ, პუერტო-რიკოს ამავე რეგიონიდან კოლდაზა-კორდეროს მიერ გამოყოფილ იქნა ზღვის ბალახზე ადაპტირებული მიკრომიცეტი- *Thalassia testudinum*-ი. უკანასკნელ წლებში, ზღვის პათოგენური მიკოფლორის შესწავლისას, ზღვის წყლის ნიმუშებში აღმოჩენეს "ხმელეთის" ობის სოკოების კიდევ ერთი წარმომადგენელი-პათოგენური *Aspergillus sydowii.* აღსანიშნავია, რომ ნიადაგებში გავრცელებული *Aspergillus sydowii* ის ყველა შტამი-არაპათოგენურია (42).

2005 წელს ჩატარებულ იქნა პუერტო-რიკოს სანაპირო ზოლის ხელახალი მიკრობიოლოგიური კვლევა, რომელიც ზღვის გარემოსთან ეუკარიოტული სოკოების ადაპტაციის სხვადასხვა ასპექტებს უკავშირდებოდა (94). ერთი წლით ადრე მსგავსი სამუშაოები განხორციელდა მაიაგიტესის ყურის სანაპირო ზოლშიც. ამ მლაშე ეკოსისტემიდან რუის-სუარესმა გამოყო *Aspergillus*- ის, *Cladosporium*-ის; *DDreschlera*-ს, *Fusarium*-ის, *Geotrichum*-ის, *Penicillium*-ის, *Trichoderma* – ს, *Mucor* –ისა და *Rhizopus*-ის გვარის მიკროსკოპული სოკოები. შექმნილი კოლექციის 80%-ს *Aspergillus*-ის გვარი შეადგენდა. Aამგვარად დადგინდა,რომ მაიაგიტესის სანაპირო ზოლში *Aspergillus*-ის გვარის მიკრომიცეტები დომინირებენ. ეს მკვლევარი ამავე დროს ასაბუთებს, რომ ზღვის სანაპირო ზოლში სოკოების სახეობრივი შემადგენლობა და რაოდენობა პირდაპირპროპორციულია წყალში არსებულ მარილის კონცენტრაციასთან (117).

მიკრობიოლოგიურ შესწავლას დაექვემდებარა მიწისქვეშა ზღვის წყლებიც. აშშ-ში, მიწისქვეშა მარილოვანი ფორმაციიდან (Permian) გამოყოფილ იქნა *Halomonadaceae*-ს ოჯახის ახალი სახეობის არქეები, ხოლო ოკლახომას შტატის ამავე ტიპის ეკოსისტემიდან –*Achrodomonas aquaeolei*. NaCl- ის 6-დან 20%-მდე კონცენტრაციის დიაპაზონში მზარდ ამ აერობული ჰალობაქტერიისათვის მარილის ოპტიმალური კონცენტრაცია 15%-ს შეადენს (142).

სენსაციური შედეგები იქნა მიღებული ცივი რეგიონების ჰიპერმლაშობების მიკრობიოლოგიური შესწავლისას (47). ცნობილია, რომ ანტარქტიდის აღმოსავლეთით მდებარე მლაშობი - ვესტფოლდი წარმოადგენს ბორცვიან-ყინულიან რეგიონს, სადც 300-მდე მარილიანი ტბა და წყალსატევია. ტბების უმრავლესობა 28%-მდე მარილს შეიცავს, მხოლოდ რამოდენიმე ტბა წარმოადგენს ჰიპერმლაშობს.

განსაზღვრულ სეზონზე, ყინულის დნობის შედეგად წარმოქმნილი წყლის ნაკადები მნიშვნელოვნად ცვლის ტბის მარილიანობას. 1995 წელს ამ უკიდურესად ექსტრემალურ გარემოში აღმოჩენილ იქნა *Flavobacterium*- ის, *Halomonas* –სა და *Cytophaga*-ს გვარების ზომიერი ჰალობაქტერიები. გამოყოფილი არქეების უმრავლესობა 0-^{0}C-ზეც კი იზრდებოდა 0.5 – დან 20 %-მდე NaCl-ის კონცენტრაციის თანაობისას (84).

არანაკლებ მოულოდნელი იყო მიკროსკოპული სოკოებისა და საფუვრების აღმოჩენა არქტიკულ ზღვებსა და ყინულებში. ამ არეალის საერთო მახასიათებელს ბიოლოგიურად აქტიური წყლის სიმცირე (წყლის დაბალი აქტივობა –aw) და დროდადრო მარილის განსაკუთრებულად მაღალი შემცველობა წარმოადგენს (139), მიუხედავად ამისა, ჰალოფილური და ჰალოტოლერანტული სოკოები მაინც "კომფორტულად გრძნობენ თავს" დაბალი აქტივობის წყლის გარემოში. ექსტრემალური ფაქტორების ერთობლივი ზემოქმედებისგან თავდაცვას ისინი ახერხებენ ოსმოსურად აქტიური, შეთავსებადი ხსნარების სინთეზით, ან - მარილის მაღალი უჯრედშიგა კონცენტრაციით. დადგენილია რომ აღნიშნულ ეკოსისტემაში დომინირებს შავი ჰალოფილური საფუვრები –*Hortea werneckii , Phaeotheca triangularis* და *Trimmatostroma salinum,* ასევე - ჰალოტოლერანტული საფუარი *Aureobasidium pullulans* და *Cladosporium* –ის გვარის მიკრომიცეტები.ეს უკანასკნელი ტაქსონომიურად და ფილოგენეზურად შავ საფუვრებს ენათესავება (53,149).

არქტიკული გარემოდან და ყინულოვანი ჰიპერმლაშობური წყლებიდან გამოყოფილი სოკოების სახეობათა შედარება ცხადყოფს, რომ მსოფლიოში არსებული მზის მლაშობების ბინადარი ჰალოფილური და ჰალოტოლერანტული ტაქსონები თანხვდება არქტიკული ზღვის სანაპიროს ტაქსონებს. პუბლიკაციის ავტორები ასაბუთებენ, რომ ანტარქტიდის მლაშობებიდან გამოყოფილი ჰალობაქტერიები ,ტროპიკულ და ზომიერ სარტყლებში გავრცელებული მათი "ტაქსონომიური" კოლეგებისგან განსხვავებით, ფსიქროტროფული თვისებებით ხასიათდებიან (52).

აღსანიშნავია, რომ პოლარულ- ექსტრემალური გარემოს ეუკარიოტული ბინადრების ტაქსონომიური კვლევები, მათი განსკუთრებული მნიშვნელობის მიუხედავად, მაინც ძალზედ მწირია. უკიდურესად ექსტრემალურ პირობებში – (Eუარყოფითი ტემპერატურისა და ოსმოსის "ზეწოლა") არსებული მიკროორგანიზმების მეტაბოლიზმის პროცესების შესწავლა "არასტუმართმოყვარე"

გარემოსადმი ექსტრემოფილების ადპტაციას მექანიზმების ახსნის საფუძველს წარმოადგენს.

1976 წელს მილერის სამეცნიერო ჯგუფმა ანტარქტიდის მშრალი ველების ნიადაგებში აღმოაჩინა *Planococcus*- ის გვარის ჰალოტოლერანტული ბაქტერიები, რომლებიც იზრდებოდნენ ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში-0-დან 40^{0}C-მდე, NaCl -ის 0-დან 2M-მდე კონცენტრაციის თანაობისას (86). ჰალოტოლერანტული კოკები გამოვლენილ იქნა ანტარქტიდის მლაშობი ნიადაგების გეოთერმული ზონიდანაც: *Mikrococcus*-ის გვარის ზოგიერთ სახეობას არსებობა შეეძლო NaCl -ის 0-დან 4,2 M -მდე კონცენტრაციის პირობებში. ეს ბაქტერია გამოყოფილი იქნა 40^{0}C-ზე, მისი ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა 37^{0}C-ს შეადგენდა. კულტურა ვეღარ იზრდებოდა 20^{0}C –ზე დაბალ ტემპერატურაზე (93).

ჰალობაქტერიების შესწავლის ადრეულ ეტაპზე, ზომიერ მლაშობებს ნაკლებ ყურადღებას უთმობდნენ წყლით გარემოცულ ჰიპერმლაშობებთან შედარებით. Mმას შემდეგ, რაც ზვიაგინცევის მიერ დადგენილ იქნა მლაშობ ნიადაგებში ჰალოფილების არსებობის შესაძლებლობა (7), არაერთი ამგვარი ეკოსისტემა დაექვემდებარა მიკრობიოლოგიურ შესწავლას. ეს კვლევები ცხადყოფს, რომ ზომიერ მლაშობებშიც უამრავი უცნობი ჰალოფილი ბინადრობს. მკვლევართა უმრავლესობა მიიჩნევს, რომ მლაშობ ნიადაგებში ჰალოტოლერანტული ფორმები აჭარბებს სუსტ და ზომიერ ჰალოფილებს (110,111), თუმცა არსებობს განსხვავებული მოსაზრებაც, რომელიც ეყრდნობა წითელი ზღვის მიმდებარე ნიადაგების მიკროფლორის შესწავლით მიღებულ შედეგებს (54). ზოგიერთი ნიადაგი მარილს შეიცავს, როგორც დამახასიათებელEშემადგენელ კომპონენტს. ასეთ მლაშობებში, ძირითადად, გავრცელებულია ოსმოტოლერანტული და ოსმოფილური მიკროსკოპული სოკოები. ჰოკინგი და პიტი გვარწმუნებენ, რომ მიკროორგანიზმთა ეს ჯგუფი უფრო იოლად ადაპტირდება ზომიერ მლაშობებთან, ვიდრე – ჰიპერმლაშობურ წყლებთან. ამავე ავტორების მიერ გამოკვლეულია სხვადასხვა ჯგუფის ქსეროფილური სოკოების *(Aspergillus ochraceus, Cryzosporium fastidium, Eurotium chevalieri, Xeromyces bisporus* და *Wallemia sebi*) ზრდის უნარი NaCl- ის, გლიცეროლისა და გლუკოზო-ფრუქტოზული ნარევის შემცველ არეებზე კულტივირების პირობებში Mმკვდარი ზღვის მიმდებარე ნიადაგებიდან გამოყოფილია ახალი სახეობის მიკრომიცეტი - *Exserohilum sodomii*.

რაზაკის სამეცნიერო ჯგუფის მიერ შესწავლილია ასუანისა (ოზისა და სარას რეგიონები) და ელ-შარკიას (ეგვიპტე) მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების რეზისტენტულობა NaCl-ის 10%-ზე მაღალი კონცენტრაციის მიმართ. შექმნილია კოლექცია, რომელიც ჰალოტოლერანტული მიკრომიცეტების ფართო სპექტრს მოიცავს: *Aspergillus flavus , Aspergillus ochraceus, Aspergillus niger, Aspergillus terreus, Penicillium* sp*., Mucor hiemalis , Stacyibotrys chartarum , Acremonium fusidioides ,Acremonium* sp*., Cladosporium cladosporioides, Mucor* sp*., Absidia* sp*., Alternaria* sp*., Gliocladium* sp*., Pseudeurotium zonatum.,Torulomyces lageta., Trichoderma* sp*.,Fusarium* sp*., Conninghamella echinulata, Botrytis* sp*., Paecilomyces* sp *და Helminthosporium*.sp (113).

კანადის "სოდოვანი მხარის" კარბონატული ნიადაგებიდან გამოყოფილია *Ascomycetes* კლასის ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები (28). სლოვენიაში შექმნილია "MZKI"-ის კოლექცია, რომელიც, ძირითადად შედგება *Ascomycetes ,Hyphomycetes ,Zygomycetes* და *Basidiomycetes* კლასის წარმომადგენლებისაგან და 300-მდე სახეობას მოიცავს. ექსტრემოფილებს შორის შერჩეულია ჰალოფილური და ჰალოტოლერანტული კულტურები (151).

ცნობილია, რომ მიკოტოქსინის უმნიშვნელოვანესი პროდუცენტები მიეკუთვნება *Eurotium*-ის გვარს, რომელიც არაჰალოფილებთან ერთად ჰალოტოლერანტულ სახეობებსაც აერთიანებს. ამ გვარის მარილისადმი რეზისტენტული ფორმები გამოყოფილია არა მხოლოდ მლაშე ნიადაგებიდან, არამედ – ზომიერად მარილიანი წყლებიდანაც (16,17,18). უკანასკნელი წლების მონაცემებით, *Eurotium*-ის ერთ-ერთი სახეობის გავრცელების არეალს მთელი მსოფლიოს ჰიპერმლაშობური წყლები წარმოადგენს. ბუტინარის სამეცნიერო ჯგუფის მიერ ჩატარებული კვლევები ცხადყოფს, რომ აღნიშნული გვარის სახეობები ეუტროფული მლაშობებში უფრო მრავალფეროვანია, ვიდრე –ოლიგოტროფულ წყლებში (34).

ჰალოტოლერანტული სოკოების გავრცელების კიდევ ერთ არეალს წარმოადგენს მარილოვანი ჭაობებიც. აბდელ-ჰაფეზის მოსაზრებით, ამ ზომიერად მარილიანი გარემოს მცენარეული ნედლეულების გახრწნის პროცესში არსებით როლს სოკოები ასრულებენ (16). ჰილდებრანტის სამეცნიერო ჯგუფმა 2001 წელს, ევროპის ამ ტიპის ეკოსისტემის ჰალოფიტებიდან გამოყო მიკორიზული სოკოების სპორების საკმაოდ ფართო სპექტრი, რომელთა 80% იდენტიფიცირდა, როგორც-

Glomus geosporum-ი (55). ერთი წლის შემდეგ სხვა მკვლევარების მიერ გამოითქვა მოსაზრება, რომ მარილოვანი ჭაობის მცენარეების ტოლერანტულობას მარილის მიმართ, როგორც ჩანს, განაპირობებს *Glomus*-ის გვარის ის სახეობები, რომელთა სპორებიც გამოყვეს ჰალოფიტების ფესვების ზონიდან-*G. geosporum* და *G.caledonium* (71). მოგვიანებით ეს ჰიპოთეზა არგუმენტირებულ იქნა კარვალოს და სხვა მკვლევარების მიერ პორტუგალიის მარილოვანი ჭაობის შესწავლისას. მათვე დაადგინეს *Glomus*-ის გვარის სოკოების ზეგავლენა ჭაობის მცენარეების ვეგეტაციაზე (35).

მიკროსკოპულ სოკოებთან ერთად მარილოვან ჭაობებში აღმოჩენილია ეუკარიოტების სხვა ჯგუფის წარმომადგენლებიც. სლოვენიის მლაშობი ჭაობიდან გამოყოფილია საფუვრების- *Aureobasidium pullulans*-ისა და *Spartina alterrniflora*-ს სახეობები. ეს მიკროორგანიზმები, *Glomus*-ის გვარის მიკრომიცეტების მსგავსად, მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ ჭაობის ჰალოფიტების გახრწნის პროცესში (53).

სხვა ავტორებმა შეისწავლეს *Aureobasidium pullulans*-ისა და *Sparttina alterniflora*-ს მარილისადმი ტოლერანტობა ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მიხედვით, რაც ჰალოფილების კლასიფიკაციის არსებით პარამეტრს წარმოადგენს (129,130,131).

აღსანიშნავია, რომ სადღეისოდ ცნობილი ჰალოფილური და ჰალოტოლერანტული საფუვრების უმრავლესობა მიღებულია მზის მლაშობი ტბებიდან. შავი საფუარი-*Hortaea werneckii* თავდაპირველად დახასიათებულ იქნა, როგორც- *Cladosporium werneckii*.1984 წელს იაპონელმა მეცნიერებმა ეს მიკროორგანიზმი მიაკუთვნეს ახალ გვარს –*Hortaea* –ს (95). შემოთავაზებულ იქნა წინადადება, რომ შავი საფუვრების ყველა სახეობა გაერთიანებულიყო ერთ ჯგუფში - *Phaeoannellomyces* (83).

1992 წელს დე ჰუგი და ვან დე ენდი ხაზგასმით მიუთითებდნენ, რომ *Hortaea*-ს გვარის ბუნებრივი საარსებო ნიშა ელექტროლიტების უფრო მაღალი შემცველობით ხასიათდება, ვიდრე-ოკეანის წყალი (40). *Hortaea acidophila*-ს "აღმოჩენამდე" *Hortaea werneckii* ამ გვარის ერთადერთ წარმომადგენლად ითვლებოდა (56). 1997 წელს დე ჰუგის მიერ გამოყოფილ იქნა საფუვრის ახალი სახეობა-*Phaeotheca triangularis* (41). 1999 წელს ზალარმა თანამშრომლებთან ერთად შეისწავლა აღნიშნული კულტურის

რეზისტენტულობა NaCl–ის სხვადასხვა კონცენტრაციების მიმართ. ეს საფუარი გაცილებით უკეთ იზრდებოდა ჰიპერმარილიან არეზე, ვიდრე- *Hortaea werneckii* და უძლებდა NaCl-ის 30% კონცენტრაციას, რის საფუძველზეც - *Phaeotheca triangularis* დახასიათებულ იქნა, როგორც- ობლიგატური ჰალოფილი. (150). ამავე მკვლევარის მიერ ადრიატიკის სანაპიროს – სესას მლაშობებში (სლოვენია) გამოვლენილ იქნა საფუვრის ახალი სახეობა- *Trimmatostroma salinum* (151). 2005წელს, აღნიშნულ ეკოსისტემაში დადგენილ იქნა საფუვრების სხვა სახეობების არსებობაც- *Pichia guillrmondii,Rhodosporidium babjevae, Rhodosporidium sphaerocarpum, Candida atmosphaerica* და *Candida parapsilosis* (34). ეს უკანასკნელი ერთი წლით ადრე აღმოჩენილ იქნა პორტუგალიის მლაშობებშიც (35), ხოლო *Candida atmosphaerica* და *Pichia* –ას გვარის საფუვრები- ტრინიდადში. ზალარის ჯგუფის მიერ მლაშობი წყლებიდან გამოყოფილი და იდენტიფიცირებულია საფუვრების სხვა წარმომადგენლებიც –*Aureobasidium pullulans,Phaeotheca triangularis* და *Hortaea werneckii* (151).

ჰალოფილური საფუვრების გავრცელების კიდევ ერთ არეალს წარმოადგენს. ეილატის (ისრაელი) მლაშობებიც. 2005 წელს ამ ეკოსისტემიდან გამოყოფილ იქნა მარილის მაღალი კონცენტრაციებისადმი ტოლერანტული სახეობები - *Yarrowia lipolytika* და *Trichosporon mucoides* (33). სხვა მკვლევარები (21) ჯერ კიდევ 1999 წელს, ჰალოადაპტაციის მექანიზმების შესწავლისას, მიუთითებდნენ ოსმოტოლერანტული საფუვრის- *Yarrowia lipolytika*, ჰიპერმლაშობურ გარემოში არსებობის შესაძლებლობაზე.

2005 წელს ისრაელის უდაბნოს მცენარეების ფოთლებიდან გამოყოფილ იქნა ამავე სახეობის ახალი ალკალიტოლერანტული შტამი, რომელიც pH –ის ფართო დიაპაზონში რეზისტენტულობას ავლენდა NaCl -ის მაღალი კონცენტრაციების მიმართ (152). ამავე ეკოსისტემის მცენარის -*Atriplexs halinus* ფოთლები გვალვიან სეზონზე მთლიანად იფარება მარილით. ასეთი ფოთლებიდან გამოყოფილია ნარინჯისფერ-პიგმენტიანი ჰალოტოლერანტული ბაქტერია - *Pseudomonas* sp., რომელიც იზრდებოდა NaCl-ის კონცენტრაციის ფართო დიაპაზონში - 0,05-დან 20%-მდე (120).

ჰალოფილების საარსებო გარემოს წარმოადგენს დამარილებული საკვები პროდუქტებიც: თევზი, ხორცი, მარილიანი სოუსები და ა.შ (99). ზომიერი

ჰალობაქტერიები ხშირად სახელდება სხვადასხვა პროდუქტების მიკრობული გაფუჭების მიზეზად, მიუხედავად ამისა, ამგვარ ნედლეულებში არსებული მიკროორგანიზმების სისტემატიკური კვლევები მაინც ძალზედ იშვიათად ტარდება. სრულიად ახლახან, 19%-მდე NaCl-ის შემცველი გამომშრალი ვირთევზიდან გამოყოფილ იქნა მარილიანი ტბებისთვის დამახასიათებელი *Halomonas*-ის გვარის ზომიერი ჰალობაქტერიები. 15^{0}C დან- 37^{0}C –მდე ტემპერატურულ დიაპაზონში ზრდისას, NaCl-ისადმი მათი მდგრადობის საზღვრები 0,1-4,5M-ს შეადგენდა (137). ანჩოუსიდან გამოყოფილი ბაქტერია *Pedicoccus halophillus*–ისათვის მარილის ოპტიმალური კონცენტრაცია 6,5-10%-ს უტოლდებოდა, თუმცა ზრდის უნარს ავლენდა 15%-იან NaCl-ის პირობებშიც (138).

1988 წელს ველერმა და ჰოკინგმა დამარილებული თევზიდან მიღეს ქსეროფილური მიკროსკოპული სოკოების რამდენიმე სახეობა –*Aspergillus candidus, Aspergillus cydowii, Paecilomyces variotii* და *Eurotium amstelodam,*. მოგვიანებით, ამავე მეცნიერებმა დაადგინეს ფაქტორები, რომლებიც სოკოების გარკვეული სახეობების დომინირებას განსაზღვრავდა გამომშრალ, დამარილებულ თევზში (147).

90-იანი წლებიდან მნიშვნელოვნად გაფართოვდა ექსტრემალური ბიოლოგიის კვლევის არეალი, რომელიც ძირითადად პროკარიოტულ ორგანიზმებზე იყო ორიენტირებული. მსოფლიოს ჰიპერმლაშობურ ეკოსისტემებში გავრცელებული ექსტრემოფილური სოკოების მეტაბოლიზმის კვლევებმა საშუალება მოგვცა, აგვეხსნა მაღალი ოსმოსური გარემოსადმი ეუკარიოტული ადაპტაციის არსი. ჰალოადაპტაციის შესაძლო მექანიზმებიდან ამჟამად პოპულარობით სარგებლობს ორი პრინციპული მიდგომა: « Solt-in » და « Compatibl solut » (148,105). პირველი სტრატეგია გამოიყენება არქეებისა *Halobacteriales* და ბაქტერიების (*Haloanaerobiales*), ხოლო მეორე - ეუკარიოტების მიმართ (25,72, 101).

დადგენილია, რომ ექსტრემალური ჰალოფილური არქეების უჯრედი ხასიათდება KCl-ის მაღალი (5M) შემცველობით, რითაც კომპენსირდება საარსებო გარემოში არსებული მაღალი ოსმოსური წნევა. მედიცისის აზრით, ჰალოფილურობის ხარისხის მატებასთან ერთად უჯრედში იზრდება Mg^{+2} -ისა და Mn^{+2}-ის იონების კონცენტრაცია.ეს უკანასკნელი კი ჰიპერმარილიან ეკოსისტემაში ჰალოტოლერანტული ბაქტერიების ადაპტაციას უწყობს ხელს (85). ამავე მოსაზრებას იზიარებენ ტრუპერი, გალინსკი, კესელი და სხვა ავტორები (60,132) რომლებიც

ამტკიცებენ, რომ ერთ – და ორ ვალენტიანი კათიონებით საარსებო გარემოსადმი ადაპტაციის უნარი მხოლოდ ექსტრემალური არქეებისა და ზოგიერთი ჰალოტოლერანტული ბაქტერიისათვისაა დამახასიათებელი. აღნიშნული თვისება მიკროორგანიზმთა ამ ჯგუფს განასხვავებს ოსმოფილების უმრავლესობისგან, რომლებიც ოსმორეგულატორულ ნაერთებს ასინთეზირებენ. ჰალოფილების ამ ჯგუფისთვის ნიშანდობლივია უჯრედში მარილისადმი ადაპტირებული ისეთი ცილების არსებობა, რომლებიც სტრუქტურისა და ფუნქციების შესანარჩუნებლად, თავისთავად საჭიროებენ NaCl-ის მაღალ კონცენტრაციას.

1974 წელს ბოროვიცკასა და ბრაუნის მიერ (31) პირველად იქნა შემოთავაზებული ტერმინი « Compatibl solut ».. მოგვიანებით კი, 1990 წელს ბრაუნმა ისინი განსაზღვრა, როგორც –"შეთავსებად ხსნარში გახსნილი ნივთიერებები". უჯრედში მაღალი კონცენტრაციით აკუმულირებული სწორედ ეს ნაერთები განაპირობებენ ფერმენტთა ნორმალურ ფუნქციონირებას მარილიან არეში. შეთავსებადი ნივთიერებები სინთეზირდება ან უშუალოდ უჯრედის მიერ, ან – ტრანსპორტირდება გარემოდან. ჰალოფილური და ჰალოტოლერანტული ეუკარიოტული მიკროორგანიზმების უმრავლესობა ჰალოადაპტაციის მიზნით გამოიყენებს ამიდებს, შაქრებს, ამინიმჟავებსა და პოლიოლებს. აღნიშნული მექანიზმის უპირატესობას მარილისადმი რეზისტენტული ცილების არსაჭიროება წარმოადგენს (31).

ბოასმა შეისწავლა კანადის ''სოდოვანი მხარიდან''გამოყოფილი მიკორიზული სოკოების თავდაცვითი რეაქციები NaCl-ის მაღალი კონცენტრაციების « ზეწოლის პირობებში ». მარილით გამოწვეული სტრესისის საპასუხოდ, აქტინომიცეტი *AActinomyces hymenoscyphus* –ი უჯრედში იწყებდა პროლინის აკუმულაციას, *Actinomyces phialocephala*-მელანინის, ხოლო ბაზიდიომიცეტების უმრავლესობა ამ მიზნით გამოიყენებდა მანიტოლს, ან – პროლინს (28). მეცნიერთა სხვა ჯგუფის მიერ ნაჩვენებია *Saccharomyces* გვარის საფუვრების ჰალოადაპტაცია დისაქარიდ – ტრეგალოზას სინთეზის საფუძველზე. ანლოგიური თავდაცვითი მექანიზმია დადგენილი *Aspergillus nidulans* –ისთვისაც (46,48). ამ მიკრისკოპული სოკოს სხვა შტამი მარილის მაღალი კონცენტრაციების ზეწოლისას წარმოქმნიდა გლიცეროლსა და ერითრიტოლს (26). ექსტრემოფილური სოკოებისთვის გლიცეროლის სინთეზის

უნარი, ამავე დროს წარმოადგენს უმთავრეს თავდაცვით რეაქციას მაღალი ოსმოსისა და დაბალი ტემპერატურის საპასუხოდ მიკოსპორინების(27).

ლიტერატურაში არსებული ინფორმაციის ანალიზი აჩვენებს, რომ მრავალ ქვეყანაში, მრავალი მეცნიერის მიერ შექმნილია ჰალოფილური მიკროორგანიზმების კოლექციები. თუმცა ეს კოლექციები ძირითადად არქეებითა და ბაქტერიებითაა წარმოდგენილი. უკანასკნელ წლებში კი აქტიურად მიმდინარეობს მიკროორგანიზმთა სხვა ჯგუფებს, განსაკუთრებით კი _ მიკროსკოპულ სოკოებსა და საფუვრებს შორის ჰალოფილური კულტურების გამოვლენა.

ვინაიდან, საქართველოს მრავალი რეგიონი მდიდარია ბიცობი და მლაშობი ნიადაგებით, ასევე მლაშე ტბებით, დიდ ინტერეს იწვევდა ასეთი ადგილებიდან მიკროსკოპული სოკოების გამოყოფა და იდენტიფიკაცია. მომავალში მიკროსკოპული სოკოების ჰალოფილურ კულტურებს შორის გამოვლენილი ფერმენტების პროდუცენტები წარმატებით შეიძლება იქნენ გამოყენებული ბიოტექნოლოგიურ პროცესებში.

1.2.ჰალოფილური მიკროორგანიზმები – ექსტრემალური ფერმენტების პოტენციური პროდუცენტები

უკანასკნელ წლებში განსაკუთრებით გაიზარდა ინტერესი ექსტრემალურ პირობებში მოქმედი სტაბილური ფერმენტებისა და მათი პროდუცენტი მიკროორგანიზმების მიმართ. ექსტრემოფილები საინტერესო ობიექტს წარმოადგენენ არა მხოლოდ სამეცნიერო მიზნებისათვის, არმედ – ახალი ბიოტექნილოგიების შექმნის თვალსაზრისითაც. ამ მხრივ განსაკუთრებულ ინტერესს იწვევს მლაშე ეკოსისტემების ბინადარი ჰალოფილური მიკროორგანიზმები და მათ მიერ პროდუცირებული მარილგამძლე ფერმენტები. ეს უკანასკნელნი წარმოადგენენ ექსტრემალურ გარემოში მოქმედი ცილების ძალზედ სპეციფიკურ ჯგუფს, რომლებიც ფუნქციონირებენ წყლის დაბალი აქტივობის პირობებშიც. ძვირფასი კომერციული პროდუქტების (ფერმენტების, პოლიმერების, ოსმოპროტექტანტების) სინთეზის უნარის მიუხედავად, ჰალოფილების ბიოპოტენციალი სადღეისოდ ნაკლებადაა რეალიზებული ტექნოლოგიურ პროცესებში. ცნობილია, რომ ექსტრემალური ჰალოფილების ფერმენტული კომპლექსები თითქმის შეუსწავლელია

(14). ამის უმთავრეს მიზეზს წარმოადგენს საკვებ არეში არსებული მარილის მაღალი კონცენტრაციები, რაც მნიშვნელოვნად ართულებს არა მხოლოდ ფერმენტული პრეპარატების მიღებასა და დახასიათებას, არამედ –თავად პროდუცენტების ფიზიოლოგიურ-ბიოქიმიური მახასიათებლების დადგენასაც. მიუხედავად ამისა, მსოფლიოში არსებულ ჰალოფილურ კოლექციებში შერჩეულია მარილის მაღალი კონცენტრაციებისადმი სტაბილური კარბოჰიდრაზების, ორგანული მჟავებისა და სხვა ძვირადღირებული მეტაბოლიტების პროდუცენტი არქეების, ეუბაქტერიებისა და ეუკარიოტების კულტურები (151), რომლებსაც უნარი შესწევთ, წარმატებით ჩაანაცვლონ აღნიშნული ნაერთების ტრადიციული, არაჰალოფილური სამრეწველო პროდუცენტები.

ჰალობაქტერიების მრავალი წარმომადგენელი ამჟღავნებს ცილოვანი პოლიმერებისა და ნუკლეინის მჟავების ჰიდროლიზის უნარს. ზოგიერთი ექსტრემალურად ჰალოფილური არქეა აქტიური ზრდისთვის ამინომჟავებსა და ცილოვან ჰიდროლიზატებსაც კი იყენებს. ამგვარი კულტურები, როგორც წესი, პროტეოლიტური ფერმენტების პროდუცენტებს წარმოადგენენ. ზვიაგინცევი მიიჩნევს, რომ ნიადაგის საფროფიტული მიკროფლორის სტრუქტურაში ჰალობაქტერიების ადგილი ცილისა და ნუკლეინის მჟავების დამშლელ მიკროორგანიზმთა ჯგუფში უნდა იყოს.

უკანასკნელ წლებში პროტეაზების პოტენციურ სამრეწველო პროდუცენტებად განიხილება ექსტრემალური ჰალოფილური არქეები, ჰალოფილური ბაქტერიები და ჰალოტოლერანტული სოკოები (140,118). მათ მიერ სინთეზირებული ეგზოპროტეაზები ძალიან პერსპექტიულია ფერმენტული კატალიზის ტექნოლოგიის თვალსაზრისით. ჰალოფილური პროტეაზების უპირატესობა მაღალი იონური ძალების არეში დალექვისა და დენატურაციისადმი განსაკუთრებული მდგრადობითაც გამოიხატება (134).

დღეს პროტეოლიტური ფერმენტები ფართოდ გამოიყენება მრწველობის სხვადასხვა დარგებში. პროტეაზების პრეპარატებზე დიდი მოთხოვნილებაა კვებისა და ტყავის მრეწველობაში, სარეცხი საშუალებების წარმოებაში, სამედიცინო დიაგნოსტიკასა და ახალი მოდიფიცირებული ცილების სინთეზის პროცესებში. აღნიშნულიდან გამომდინარე, ინტენსიური სამეცნიერო კვლევები ფოკუსირებულია

პროტეაზების ახალი, არატრადიციული ჰალოფილური პროდუცენტების გამოვლენისაკენ.

ტროშინის სამეცნიერო ჯგუფის მიერ უზბეკეთის უდაბნოს მლაშობებისა და არალის ზღვის დამშრალი ფსკერიდან გამოყოფილია ექსტრემალურად ჰალოფილური არქებაქტერიებისა (*Halobacterium*- ის გვ.) და ეუბაქტერიების (*Bacillus*-ის გვ.) სახეობები. შექმნილია კოლექცია, რომელიც 50-მდე ჰალოფილს მოიცავს. ეგზოპროტეაზას სეკრეცია დადგენილია კაზეინის შემცველ არეზე ექსტრემალური ჰალოფილური არქეების კულტივირებისას, მაშინ როდესაც *Bacillus*-ის გვარის არცერთი გამოკვლეული შტამი არ ხასიათდებოდა პროტეოლიტური აქტივობით. საკვებ არეში უჯრედგარე პროტეაზების სეკრეცია ნაჩვენებია ჰალოფილური არქებაქტერიების სხვა შტამებისთვისაც (123). ავტორები პუბლიკაციაში (133) ახასიათებენ პროტეაზას პროდუცენტ *Pseudomonas* გვარის ზომიერ ჰალოფილურ ბაქტერიას რომლის იდენტიფიკაცაც ვერ მოხერხდა.

სლოვენიაში არსებულ "MZKI "-ს მიცელიალური სოკოების კოლექციაში გამოვლენილია უჯრედგარე პროტეაზების პროდუცენტი ჰალოფილური და ჰალოტოლერანტული სოკოები, რომლებიც წარმოადგენენ *Hyphomycetes, Zygomycetes , Ascomycetes* და *Basidiomycetes* კლასებს (151).

ნებისმიერი მიკროორგონიზმის მნიშვნელოვან ეკოლოგიურ მახასიათებელს წარმოადგენს სხვადსხვა ბიოპოლიმერის ჰოდროლიზის შესაძლებლობა. ტროშინის მონაცემების მიხედვით, სახამებელი ხელსაყრელ სუბსტრატს წარმოადგენდა ექსტრემალური ჰალოფილური არქეებისა (*Halobacterium*) და ბაქტერიების მრავალი შტამისთვის (*Bacillus*), თუმცა ამილაზას პროდუცენტები მხოლოდ *Bacillus*-ის გვარისთვის იყო დამახასიათებელი (14). მარილგამძლე ამილაზების პროდუცენტების გამოვლენილია არა მხოლოდ ექსტრემალურად ჰალოფილურ მიკროორგანიზმებს, არამედ –ზომიერ ჰალოფილებს შორისაც. გაწმენდილია და დახასიათებული *Acinetobacter*-ისა და *Micrococcus* – გვარების ზოგიერთი ჰალოფილური შტამის ამილაზები. ზღვის ქვიშიდან გამოყოფილი *Acinetobacter* sp.-ის ამილაზა ნეიტრალურ pH-ზე, NaCl-ის ძალზედ მცირე კონცენტრაციის პირობებშიც კი 0,2-დან- 0,6 M კარგავდა აქტივობას, თუმცა სტაბილიზაცია იოლად მიიღწეოდა 10 mM $CaCl_2$- ის დამატებით.აღსანიშნავია, რომ ეს ზომიერი ჰალოფილი მაქსიმალურ ამილაზურ აქტივობას 1-დან 2M-მდე NNaCl-ის თანაობისას ავლენდა

(99). ამილაზას პროდუცენტი *Natronococcus halobia* სახამებლის ჰიდროლიზის შედეგად წარმოქმნიდა მალტოზას, მალტოტრიოზასა, მალტოტეტრაოზასა და მცირე რაოდენობით - გლუკოზას (98). ამილაზას სხვა ჰალოფილური პროდუცენტი - *Micrococcus varians* მაღალაქტიურ ამილაზას ასინთეზირებდა 2M NaCl-ის შემცველ საკვებ არეზე. იმ შემთხვევაში თუ კულტურას გაზრდიდნენ 2 M – ზე ნაკლებ NaCl – ის თანაობისას,Aგაწმენდისას ფერმენტი სწრაფად ინაქტივირდებოდა მარილის ძალზე მცირე კონცენტრაციის პირობებში (64) *Micrococcus*-ის გვარის სხვა შტამის ამილაზას ბიოსინთეზითვის pH-ის ოპტიმალური მნიშვნელობა შეადგენდა 7,5; ხოლო NaCl-ის რაოდენობა - 1,4-დან -2M –მდე (61).

ახალი ტექნოლოგიების შექმნისათვის დიდი მნიშვნელობა ენიჭება განსაკუთრებულ პირობებში (მაღალი ტემპერატურა, მჟავე და ტუტე გარემო, მარილების მაღალი კონცენტრაცია) მზარდი მიკროორგანიზმებიდან გამოყოფილი ფერმენტების მიღებას. რადგანაც, ექსტრემოფილური მიკროორგანიზმების მიერ პროდუცირებული ფერმენტები უფრო სტაბილურები არიან, ჩვეულებრივ პირობებში მზარდი მიკროორგანიზმების მიერ პროდუცირებულ ფერმენტებთან შედარებით და მდგრადობას ინარჩუნებენ ექსტრემალურ პირობებშიც.

მდიდარი ბიოპოტენციალის მიუხედავად ჰალოფილების მიერ პროდუცირებული ფერმენტები ნაკლებადაა რეალიზებული. მიკროსკოპული სოკოების ჰალოფილური კულტურების გამოყოფა, და მათ შორის ფერმენტების აქტიური პროდუცენტების გამოვლენა, მომავალში ბიოტექნოლოგიურ პროცესებში მათი გამოყენების პერსპექტივას წარმოადგენს.

თავი II

ექსპერიმენტული ნაწილი

კვლევის მასალები და მეთოდები

2.1 საქართველოს მარილიანი ნიადაგებიდან და ტბებიდან მიკროსკოპული სოკოების გამოყოფა

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა საქართველოს მარილიანი ნიადაგებიდან და ტბებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოები.

ნიადაგებისა და წყლის ნიმუშები აღებულ იქნა კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკეების მლაშობებიდან, კერძოდ :

1. ალაზნის ველის გეოგრაფიულად დაშორებული ტერიტორიებიდან –ვაკის შუა, ამაღლებული ნაწილიდან და სანაპირო ზოლიდან (ძლიერი დამლაშების ნიადაგები სოფლების - ჩათმას, ბადიაურისა და ლაკბეს მლაშობ –ბიცობიანი ნიადაგებიდან (საშუალო ხარისხის დამლაშება და ვაკის დამლაშებული მასივის პერიფერიული ნაწილიდან (სუსტი დამლაშება.

2. ქვემო ქართლის ვაკის მშრალი ველის –სოღანლუღის ველის გეოგრაფიულად დაშორებული ტერიტორიებიდან გარდაბნის რაიონის ნატბეურისა (კრასნოგორსკის) და კუმისის მარილიანი ტბებიდან, მათი მიმდებარე ნიადაგებიდან, სანაპირო ზოლიდან, წყალმცენარეებისა და ნახევარუდაბნოს მცენარეების როზოსფეროდან, მარილიანი ბორცვებიდან და ტბის შლამიდან.

მიკროსკოპული სოკოების კულტურების გამოსაყოფად თავდაპირველად აღნიშნული ზონებიდან ავიღეთ 10-10 გასაშუალებული ნიმუში. (ნიადაგების ნიმუშები აღებულია 50სმ რადიუსში - ხუთი სხვადასხვა ადგილიდან, 15სმ სიღრმიდან) (15).

მიკრობიოლოგიური ჩათესვის წინ ვახდენდით ნიადაგის ნიმუშების წინასწარ დამუშავებას, რათა მიგვეღო სუსპენზია, რომელშიც მიკროორგანიზმები იქნებოდნენ ცალკეულ, თავისუფლად მოცურავე უჯრედების სახით. ეს მიღწეულ იქნა ნიადაგის აგრეგატების დისპერგირების, მიკროორგანიზმთა უჯრედების დესორბციის და მიკროკოლონიების ცალკეულ შემადგენელ უჯრედებად დაყოფის გზით (6). დამუშავებული ნიადაგის ნიმუშების ჩათესვას ვახორციელებდით ვაკსმანის ნიადაგების განზავების მეთოდითა (144) და ნიადაგის პირდაპირი ჩათესვის მეთოდით (146). ვიღებდით შემდეგ განზავებებს - 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 - იმისათვის რომ სუსპენზიის თითოეულ თავისუფლად მოცურავე უჯრედს საკვებ არეზე მოხვედრისას მოეცა კოლონია. შევარჩიეთ სელექტიური საკვები არეები სხვადასხვა პრინციპით.

1. ენერგიის სპეციფიური წყაროების შემცველი საკვები არეები, რომლებიც ხელმისაწვდომია მხოლოდ მიკროორგანიზმთა გარკვეული ჯგუფისათვის (ცელულოზა, სახამებელი).

2. საკვები არეები, რომლებიც შეიცავენ სპეციფიკურ ქიმიურ ნაერთებს (ზრდის ინჰიბიტორებს) და არატოქსიკურ ნივთიერებებს, რომლებიც მეტაბოლიზმში მონაწილეობას არ იღებენ, მაგრამ ცვლიან არის პირობებს (მჟავიანობას, ტუტიანობას). ზემოთ აღნიშნული პრინციპების შესაბამისად შერჩეულ იქნა 6 საკვები არე.

საკვები არეები:

1. უნივერსალური არე - 0,5ლ ლუდის ბადაგი 70B, 0,5ლ ონკანის წყალი, 20,0გ აგარ-აგარი. (pH-5,5-6,0)
2. ჩაპეკის შემჟავებული არე (ბაქტერიების დასათრგუნად) –გლუკოზა-20,0, $NaNO_3$-9,1; KH_2PO_4-1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$-0,5;KCl-0,5; $FeSO_4 \cdot H_2O$-0,02; აგარ-აგარი-20,0 (pH-3,5-4,0)
3. ჩაპეკ-დოქსის არე –საქაროზა-30,0; $NaNO_3$-2,0; K_2HPO_4-1,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$-0,5; KCl-0,5, $FeSO_4 \cdot H_2O$-0,01, აგარ-აგარი-20,0 (pH-4,5-5,0).
4. ცელულოზის დამშლელი მიკროსკოპული სოკოების გამოსაყოფად გეტჩინსონისა და კლეიტონის საკვები არე –K_2HPO_4-1,0; $CaCl_2$-0,1;, $MgSO_4.7H_2O$-0,3, NaCl-0,1, $FeCl_2$ -0,01, $NaNO_3$- 2,5, აგარ-აგარი-20,0 (pH-5,5-6,0). ყველა აღნიშნული არე შეიცავდა 1% NaCl-ს.

სტერილიზაციის რეჟიმი იყო 0,7 ატმ, 40წთ. კულტივირებას ვაწარმოებდით 28^0-30^0C-ზე.

ნიადაგებიდან მიკოფლორის პირველადი გამოყოფის შემდეგ, პირველადი ჩანათესებიდან, გამოვყავით სუფთა კულტურები:

მათ მისაღებად პეტრის თასებზე განვითარებულ ცალკეულ კოლონიების ამოთესვას ვიწყებდით ინკუბაციის მე-5 დღეს აღნიშნულ საკვებ არეებზე. სუფთა კულტურების გამოყოფას ვაწარმოებდით მარყუჟის მოხრილი წვერით, რომლის საშუალებით ფრთხილად გადაგვქონდა მიცელიუმის ნაგლეჯი საკვებ არეზე, მჭიდრო სპორომატარებლობისას სპორების მინიმალური რაოდენობა თავსდებოდა საკვებ არეზე. გამოყოფილი სუფთა კულტურები გადაგვქონდა აგარიზებულ საკვებ არეებიან სინჯარებში. კულტივირებას ვაწარმოებდით 28^0-30^0C-ზე 10 დღის განმავლობაში. უკვე გასუფთავებულ კულტურებს ვინახავდით მაცივარში 4^0C-ზე.

გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების რაოდენობაზე ვმსჯელობდით კოლონიების წარმომქმნელი ერთეულის განსაზღვრით (კწე) 1გრ. მშრალ ნიადაგზე გადაანგარიშებით, ფორმულა A=abv/g (5).

ცალკეული გვარის შეხვედრის სიხშირეს ვსაზღვრავდით ფორმულით:

$$\text{გვარის შეხვედრის სიხშირე} = \frac{\text{ნიმუშების რაოდენობა, სადაც გამოვლენილია მოცემული გვარი}}{\text{ნიმუშების საერთო რაოდენობა}}$$

2.2 გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების იდენტიფიკაცია.

თავდაპირველად კულტურების კულტურალურ-მორფოლოგიურ თვისებებს ავღწერდით ვიზუალურად კოლონიების ზრდის სიჩქარის, კოლონიის დიამეტრის ზომას, ფერს და ა. შ. მიხედვით. შემდეგ ვაწარმოებდით, მიკროსკოპის მცირე გადიდებით კოლონიების პეტრის თასზე, დათვალიერებას, შემდეგ კი ვამზადებდით პრეპარატებს საანალიზოდ:

მიკროსკოპული პრეპარატის დასამზადებლად, გასტერილებული მარყუჟის წვერით ვჭრიდით სოკოების კოლონიების ნაწილს, რამდენადაც შესაძლებელი იყო საკვები არის აგარის გარეშე, ვათავსებდით წყლის წვეთში, რომელშიც იხსნებოდა სპორები. ვინაიდან სოკოს ზოგიერთი ელემენტი, ძირითადად სპორები და კონიდიები არ სველდება წყლით, წყალს ვამატებდით ეთილის სპირტს 1:1 ან კონცენტრირებულ ძმარმჟავას.

ასევე ვამზადებდით პრეპარატ-ანაბეჭდს, აგარიზებული საკვები არიდან ვჭრიდით დაახლოებით 10 მმ დიამეტრის კოლონიას, რომელსაც ვათავსებდით სასაგნე მინაზე კოლონიით ზევით, ფრთხილად და მჭიდროდ ზემოდან ვაფარებდით სტერილურ საფარი მინას. შემდეგ საფარ მინას ვდებდით სასაგნე მინაზე, რომელზეც წინასწარ დაწვეთებული გვქონდა წყალი ან მეთილენის ლურჯი. მზა პრეპარატის კვლევას ვახდენდით მშრალი ოპტიკური სისტემით.

იდენტიფიცირებისათვის გამოვიყენეთ საკვლევები (3,10,11,82).

2.3. α- და გლუკო-ამილაზების, ცელულაზების, ქსილანაზებისა და პროტეაზების პროდუცენტი მიკროსკოპული სოკოების შერჩევა

კარბოჰიდრაზების სკრინინგს ვაწარმოებდით სიღრმული კულტივირებით. ჩასათესი მასალა წარმოადგენდა 10 დღიანი კულტურის კონიდიების სუსპენზიას. მიკროსკოპული სოკოების ცალკეული შტამების სიღრმული კულტივირება მიმდინარეობდა 750 მლ-იან ერლენმეიერის კონუსურ კოლბებში, თერმოსტატირებულ სანჯღრეველაზე (180-200ბრ/წთ). 30^{0}C-ზე, 72 საათის განმავლობაში.

ამილაზების პროდუცენტების გამოსავლენად სიღრმული კულტივირება მიმდინარეობდა თხევად არეში, რომლის შემადგენლობაა(%): სახამებელი-6,0, $NaN0_3$-0,91, KH_2PO_4-0,1, $MgSO_4.7H_2O$-0,05, KCl-0,05, $FeSO_4.H_2O$ -0,0002, ალაოს ღივები-3,0. pH 5.0-5.5.

ცელულაზას პროდუცენტების გამოსავლენად სიღრმული კულტივირება მიმდინარეობდა თხევად არეში, რომლის შემადგენლობაა(%): მიკროკრისტალური ცელულოზა-0,1, $NaN0_3$-0,3, KH_2PO_4-0,2, $MgSO_4.7H_2O$-0,05, სიმინდის ექსტრაქტი-1,5. pH 4,5.

ქსილანაზას პროდუცენტების გამოსავლენად სიღრმული კულტივირება მიმდინარეობდა თხევად არეში, რომლის შემადგენლობაა, %): სოიას ფქვილი- 3,0; Na_2HPO_4- 1,5; $(NH_4)_2SO_4$- 0,2; KCl-0,05; $MgSO_4$- 0,015.

პროტეაზას პროდუცენტების გამოსავლენად სიღრმული კულტივირება მიმდინარეობდა თხევად არეში, რომლის შემადგენლობაა, %: $KN0_3$-0,1; KH_2PO_4-0,1; $MgSO_4 \times 7H_2O$-0,007; KCl-0,05; $FeSO_4 \times H_2O$ -0,005; საფუვრის ექსტრაქტი- 0,5; კაზეინი-0.1; pH 5,0

კულტივირების შემდეგ კულტურალურ სითხეს ვაცენტრიფუგებდით 4000 ბრ/წთ და კულტურალური სითხეში კარბოჰიდრაზების აქტივობას ვსაზღვრავდით.

2.4 α-ამილაზური აქტივობის განსაზღვრა

α-ამილაზის აქტივობას ვსაზღვრავდით, ფერმენტული რეაქციის შედეგად მიღებული იოდ-სახამებლის ფერად რეაქციაზე დამყარებული რუხლიადევასა და გორიაჩევას მეთოდით (12).

α-ამილაზას აქტივობის ერთეულად მიღებულია ფერმენტის ისეთი რაოდენობა, რომელიც იწვევს 1 გ სახამებლის ჰიდროლიზის კატალიზს 30^0C-ზე 1 სთ-ის განმავლობაში.

აქტივობას ვსაზღვრავდით შემდეგნაირად: 30^0C-ის პირობებში თერმოსტატში ჩადგმულ სინჯარაში 10მლ სუბსტრატს (1%-იანი ხსნადი სახამებლი) ვუმატებდით 4მლ გამოხდილი წყალს და 1მლ ფერმენტულ ხსნარს. 10 წუთი ინკუბაციის შემდეგ სინჯარიდან ამოგვქონდა 0,2 მლ ხსნარი და ვუმატებდით წინანწარ გამზადებულ 10 მლ იოდის სამუშაო ხსნარს.

პარალელურად, თერმოსტატში კონტროლად ჩადგმული სინჯარიდან (რომელშიც 10მლ სუბსტრატი და 5მლ გამოხდილი წყალია), აგრეთვე ამოგვქონდა 0,2 მლ ხსნარი და ვუმატებთ 10 მლ იოდის სამუშაო ხსნარს. ხსნარების შეფერილობის ინტენსივობას, რაც დამახასიათებელია იოდ-სახამებლის რეაქციისათვის და დამოკიდებულია სახამებლის ჰიდროლიზის ხარისხზე, ვზომავდით 650 ნმ-ზე (λ=650 კონტროლის ოპტიკური სიმკვრივე)

ჰიდროლიზებული სახამებლის რაოდენობას ვსაზღვრავდით შემდეგი ფორმულით:

$$C = \frac{D_1 - D_2}{D_1} * 0.1 \text{ გ}$$

D_1 _ კონტროლის სიმკრივე

D_2 _ საკვლევი ხსნარის სიმკვრივე

C _ ჰიდროლიზებული სახამებლის რაოდენობა რეაქციის პროცესში

α-ამილაზას აქტივობა გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:

$$AC = \frac{7.264*C - 0.03766}{1} * 1000 \text{ ერთ/გრ}$$

2.5. გლუკოამილაზური აქტივობის განსაღვრა

გლუკოამილაზურ აქტივობას ვსაზღვრავდით მეთოდით, რომელიც დამყარებულია ხსნადი სახამებლის ჰიდროლიზის შედეგად წარმოქმნილი გლუკოზის რაოდენობის განსაზღვრაზე.

გლუკოზის რაოდენობას ვსაზღვრავდით დალგვისტის მეთოდით (39).

სუბსტრატად ვიყენებდით 1%-იანი ხსნადი სახამებლის ხსნარს აცეტატურ ბუფერში (pH 4.7). აღნიშნული სუბსტრატის 10მლ-ს ვუმატებდით 4მლ გამოხდილ წყალს და 1მლ ფერმენტულ ხსნარს. სინჯარას ვათავსებდით თერმოსტატში 30^0C-ზე. 10წთ-იანი ინკუბაციის შემდეგ 1მლ ფერმენტულ ხსნარს ვასხამდით ცარიელ სინჯარაში. სადაც ვახდენდით ფერმენტის ინაქტივაციას, მდუღარე წყლის აბაზანაში მოთავსებით 2წთ-ის განმავლობაში.

პარალელურად ძირითადი ფერმენტული ხსნარიდან ვიღებდით 5-5მლ ხსნარს. 20წუთი ინაქტივირების შემდეგ, იგივე პროცესს ვიმეორდებდით, რათა თითოეულ სინჯარისათვის გვქონოდა თავისი კონტროლი.

საკვლევი ხსნარის გაცივების შემდეგ, სინჯარაში ვუმატებდით 3მლ სამუშაო ხსნარს (გლუკოზოოქსიდაზურ-პეროქსიდაზური რეაქტივი), ვაყოვნებდით და ვზომავდით ოპტიკურ სიმკვრივეს 420ნმ-ზე. გლუკოამილაზას აქტივობის ერთეულად მიღებულია ფერმენტის ისეთი რაოდენობა, რომელიც ხსნად სახამებელზე მოქმედებისას წარმოქმნის 1 მიკრომოლ გლუკოზას 1წთ-ის განმავლობაში, pH 4.7 და 30^0C ტემპერატურის პირობებში.

გლუკოამილაზას აქტივობა (ერთ/გ ან ერთ/მლ) ისაზღვრება შემდეგი ფორმულით:

$$C = \frac{a*b*15}{n*180*10}$$

n – ფერმენტული ხსნარის რაოდენობა.

a – გლუკოზის ნამატი სტანდარტული მრუდით.

b – განზავების კოეფიციენტი.

10 – ჰიდროლიზის დრო, წთ;

180 – გლუკოზის მოლეკულური მასა (მიკროგრამის მიკრომოლში გაანგარიშებით).

2.6. საერთო ცელულაზური აქტივობის განსაზღვრა ფილტრის ქაღალდის მიხედვით

საერთო ცელულაზურ აქტივობას ვსაზღვრავდით მეთოდით (49), რომელიც დაფუძნებულია ცელულაზის უნარზე, მოახდინოს უხსნადი სუბსტრატების (კერძოდ, ფილტრის ქაღალდის) ჰიდროლიზი ხსნად ოლიგო- და მონოსაქარიდებამდე. აღმდგენელ შაქრებს ვსაზღვრავდით სომოჯი-ნელსონის მეთოდით (92,121).

სარეაქციო არეს ვამზადებდით შემდეგნაირად: 50მგ ვატმანის [1]1 ფილტრის ქაღალდს, ვჭრიდით 1X6სმ ზომაზე, ვკეცავდით გარმონისებურად. შემდეგ ვათავსებდით სინჯარაში, და ვამატებდით 1მლ აცეტატურ ბუფერს (0.05 M, PH 4.6).

სინჯარებს ვაცხელებდით თერმოსტატში 60^{0}C-ზე 5წთ-ით, შემდეგ ვუმატებდით 1მლ კულტურალური სითხეს (რომელიც წინასწარ განვაზავეთ გამოხდილი წყლით 1/5-თან შეფარდებით). ინკუბაციას ვაწარმოებდით თერმოსტატში 1საათის განმავლობაში. ამის შემდეგ სინჯარებიდან ვიღებდით 1მლ საანალიზო ხსნარს და ვუმატებდით 1მლ სომოჯის რეაქტივს, გადაგვქონდა მადუღარ აბაზანაში, ვაჩერებდით 20წუთი (დუღილის დროს სინჯარებს თავზე მორგებული ჰქონდათ წვეთდამჭერები). 20წუთი დუღილის შემდეგ სინჯარებს ვაცივებდით ცივ წყალში, რის შემდეგაც ვუმატებდით ნელსონის რეაქტივს 1მლ-ის ოდენობით, შემდეგ თითოეულ სინჯარას ვასხამდით 7-7მლ გამოხდილ წყალს.

კონტროლად გამოიყენებოდა: ფილტრის ქაღალდს დამატებული 2მლ ბუფერი pH 4.6 (ფერმენტული ხსნარის პირობებში).

ოპტიკურ სიმკვრივეს ვზომავდით 597 ნმ ტალღაზე.

საერთო ცელულაზურ აქტივობას ვანგარიშობდით შემდეგი ფორმულით:

$$A = \frac{a}{t * E}$$

სადაც: A – აქტივობაა ფილტრის ქაღალდის მიხედვით ერთ/გ ან ერთ/მლ;

a. – აღმდგენელი შაქრების რაოდენობა მკმ/ლ;

t – ინკუბაციის დრო წუთებში;

E – ფერმენტის კონცენტრაცია საინკუბაციო ხსნარში გ/ლ ან მლ/ლ.

2.7 ქსილანაზური აქტივობის განსაზღვრა

ქსილინაზური აქტივობის განსაზღვრისათვის სუბსტრატად ვიყენებდით არყის ხის ქსილანს სუბსტრატს ვხსნიდით 60^{0}C-ის მქონე 80 მლ 0,5 M Na- ციტრატულ ბუფერში (pH 5,3) და ვაცხელებდით სანჯღრეველაზე დუღილის ტემპერატურამდე. ხსნარს ვაყოვნებდით შემდგომი მორევის პირობებში 24სთ-ის განმავლობაში, რის შემდეგ ბუფერით ვავსებდით 100 მლ- მდე. სარეაქციო არე შედგება: 1,8 მლ სუბსტრატის ხსნარისა და 0,2 მლ ფერმენტული ხსნარისაგან. ინკუბაციის ხანგრძლივობა 5წთ 50^{0}C. აღმდგენელი შაქრების განსაზღვრისათვის სარეაქციო არეს ვუმატებდით 3მლ DNS-ის რეაქრივს დავადუღებდით 5 წუთი. კონტროლი იზომება

ზუსტად ანალოგიურად, იმ განსხვავებით, რომ ნაცვლად 0,2 მლ ფერმენტული ხსნარისა სარეაქციო არეში შეგვაქვს 0,2 მლ ბუფერული ხსნარი. სტანდარტული ხსნარი მზადდება სუფთა ქსილოზაზე. საწყისი ხსნარის მოლარობა 0,01- ის ტოლია. ქსილანაზური აქტივობის ერთეულად ვიღებდით ფერმენტის იმ რაოდენობას, რომელიც აკატალიზებს 1 მკმოლ-ის ექვივალენტ ქსილოზას 1 წთ-ში მოცემულ პირობებში.

2.8 პროტეაზური აქტივობის განსაზღვრა

2 მლ 2% კაზეინს, წინასწარ ინკუბირებულს 37^0C–ზე ვუმატებთ 1 მლ ფერმენტულ ხსნარს, რომელიც ასევე წინასწარ იყო ინკუბირებული 37^0C-ზე. სარეაქციო ნარევს ვაყოვნებთ 10 წთ თერმოსტატში 37^0C–ზე. ინკუბაციის შემდეგ ვუმატებთ 5 მლ 5% TXY და ვფილტრავთ. ფილტრატიდან ვიღებთ 1 მლ ნიმუშს და ვუმატებთ 4 მლ 6% NNa_2CO_3-ის ხსნარს და 1 მლ 1:5 განზავებულ ფოლინის რეაქტივს, ვაყოვნებთ 30 წთ ოთახის ტემპერატურაზე და ვზომავთ 650 ნმ ტალღის სიგრძეზე (22).

ფერმენტის აქტივობის ერთეულად მიღებულია ფერმენტის ის რაოდენობა, რომელიც გარდაქმნის ერთ მიკროექვივალენტ ტიროზინს 1 წთ-ის განმავლობაში.

$$E=\frac{a \times 8}{181 \times 10},$$

სადაც E – ფერმენტის აქტივობის ერთეული;

8 – განზავების კოეფიციენტი ფერმენტული ხსნარისათვის;

181 – ტიროზინის მოლეკულური მასა;

a – ტიროზინის რაოდენობა საკალიბრო მრუდის მიხედვით (მიკროექვივალენტები).

2.9 კულტურების პათოგენურობის დადგენა

მიკროსკოპული სოკოების კულტურების ზოოპათოგენურობის განსაზღვრას ვახდენდით კურდღლის ვენაში სოკოს სუსპენზიის შეყვანით (97).

ფიზიოლოგიურ ხსნარით ვამზადებდით სოკოს კულტურის სუსპენზიას ისე, რომ განზავების მიხედვით მიგვეღო ორი დოზა: 250 და 500 ათასი უჯრედი 1მლ-ში. ასეთი ფიზიოლოგიური ხსნარი შეგვყავდა კურდღლის ვენაში და ცხოველის რეაქციას ვსწავლობდით კლინიკური დაკვირვებით, პათანატომიური გაკვეთების, ორგანოების მიკროსკოპული და მიკოლოგიური შესწავლის გზით.

პათანატომიური გაკვეთებისა მიკროსკოპული გამოკვლევების დროს ძირითადი ყურადღებას ვაქცევდით სოკოს განვითარებას ორგანოებში. მიკოლოგიური ანალიზისათვის სპირტქურის ალზე გატარებული ღვიძლიდან და თირკმლიდან ვიღებდით ანათლებს ვათავსებდით აგარის ზედაპირზე ჩაპეკის არიან პეტრის თასებში.

კულტივირებას ვახდენდით 40^0C-ზე 10 დღის განმავლობაში.

ფიტოპათოგენურობის განსაზღვრისათვის ვიყენებდით ბერესტეცკის მეთოდს (2): ხორბლის მარცვლებს ვასველებდით სოკოს კულტურის კულტურალური ხსნარით. პათოლოგიურად ითვლებოდა ის კულტურები, რომლებიც იწვევდნენ მარცვლების ზრდის შეფერხებას 30%-ით ან მეტით.

2.10 ტოქსიკურობის განსაზღვრა კურდღელზე კანის სინჯის მიხედვით

კურდღელს წინასწარ გაპარსულ კანზე, ბარძაყის მიდამოში ვაზელდით მცენარეულ ზეთში დაქუცმაცებულ სოკოს 10 დღიან მიცელიუმს, რომელიც წინასწარ იყო დასრესილი ზეთში, და ასევე ხორბლის მარცვალზე გაზრდილი 15 დღიანი კულტურების ექსტრაქტს.

სოკოების კულტივირებისათვის, ხორბლის მარცვალი შეგვქონდა 1,5ლ მოცულობის ბრტყელკედლებიან ჭურჭელში 100–200გ ოდენობით. ვნამავდით წყლით და ვასტერილებდით 1ატმ-ზე 40წუთის განმავლობაში. სოკოს კულტურებიან სინჯარებში ვამატებდით 3-5მლ სტერილურ წყალს, ჩამოვრეცხავდით კონიდიებს და სპირტქურის ალზე გადაგვქონდა ჭურჭელში, სადაც მოთავსებული იყო გასტერილებული ხორბლის მარცვლები. ნათესს ვათავსებდით თერმოსტატში და

ვზრდიდით 40^0C-ზე 15 დღის განმავლობაში. შემდეგ 4-5 დღე ვაჩერებდით ოთახის ტემპერატურაზე. ტოქსიკური ნივთიერებების უკეთესად დაგროვებისათვის ყოველ ორ დღეში ერთხელ კარგად ვურევდით. სოკოს კარგად განვითარების შემთხვევაში ხორბლის მარცვლებს ვიღებდით ჭურჭლიდან, ვათავსებდით ფილტრის ქაღალდისაგან დამზადებულ პარკებში და ვაშრობდით 40^0C-ზე. შემდეგ 50გ-ს ვფქვავდით და ვასხამდით გოგირდის ეთერს. Eექსტრაქცია გრძელდებოდა 24სთ-ის განმავლობაში ოთახის ტემპერატურაზე. ექსტრაქტს ვფილტრავდით და ვაორთქლებდით ამწოვ კარადაში გამხსნელის სრულ აორთქლებამდე. მიღებულ ცხიმისებურ მასას ორჯერ 24სთ-ის ინტერვალით ვუსმევდით კურდღელს წინასწარ დამუშავებული კანის ზედაპირზე (4-5სმ^2). კანის რეაქციას ვსწავლობდით სპეცივსევას მიერ შემოთავაზებული მეთოდით (13).

2.11. ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა

გამოყოფილი კულტურების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენის მიზნით შევისწავლეთ ტემპერატურის, pH-ისა და NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციის გავლენა კულტურების ზრდა-განვითარებაზე.

ტემპერატურულ საზღვრების ვადგენდით მიკროსკოპული სოკოების გაზრდით 5^0C -55^0 C-მდე, 5^0C-ის ინტერვალით.

კულტურების ზრდის ოპტიმალური pH-ის დასადგენად კულტურებს ვზრდიდით pH 2.0-დან pH 10.0-მდე 0,5 ინტერვალით, საწყის საკვებ არეში.

ტემპერატურისა და pH-ის ოპტიმუმად მიღებული იყო სოკოების კულტურების მაქსიმალური ნაზრდი, რომელიც ისაზღვრებოდა კოლონიის დიამეტრის ზომით და ზრდის სიჩქარით.

ჰალოფილური კულტურების გამოსავლენად საწყის საკვებ არეში NaCl შეტანილი იყო სხვადასხვა კონცენტრაციით 1,5M დან – 4,0M-მდე (შესაბამისად 2,93% _ 23,2%).

2.12. ორგანული ტოქსიკანტების ასიმილაციის უნარის დადგენა

მიკროორგანიზმების მიერ ორგანული ტოქსიკანტების ბიოდეგრადაციის უნარის დასადგენად კულტურებს ვზრდიდით ტოქსიკანტების სხვადასხვა კონცენტრაციის შემცველ მყარ, აგარიზებულ საკვებ არეზე. საკვებ არეში შეგვქონდა ორგანულ ტოქსიკანტები: ფენოლი (200მგ/ლ),, ბენზ(α)პირენი (200მგ/ლ), ბენზოლი (30 მლ/ლ).

ჩასათეს მასალად ვიყენებდით მყარ საკვებ არეზე 10 დღის განმავლობაში 30^{0}C ტემპერატურაზე გაზრდილი კულტურების კონიდიების სუსპენზიას. სტერილიზაციის რეჟიმი 0,5 ატმ, 30წთ. სიღრმულ კულტივირებას ვაწარმოებდით 750 მლ კოლბებში კულტურებისათვის შერჩეულ შესაბამის ოპტიმალურ პირობებში.

მიკროსკოპული სოკოების მიერ ორგანული ტოქსიკანტების ასიმილაციაზე ვმსჯელობდით კულტურალურ სითხეში ნარჩენი ტოქსიკანტის რაოდენობის მიხედვით.

2.13 მონაცემების მათემატიკური დამუშავება

ნაშრომში წარმოდგენილი სიდიდეები წარმოადგენენ სამი გაზომვის საშუალო არითმეტიკულს; ფარდობითი ცდომილების მაქსიმალური მნიშვნელობაა 5%. მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება ხდებოდა ფრიტცისა და შენკის მიხედვით (155).

თავი III

მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

3.1. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები

ცნობილია, რომ მარილის მაღალი კონცენტრაციისადმი გამძლე მიკროორგანიზმები ძირითადად მლაშე ნიადაგებსა და მარილიან ტბებშია გავრცელებული. აქედან გამომდინარე, ლიტერატურულ მონაცემებზე დაყრდნობით, საქართველოში არსებული 48 ნიადაგური რაიონიდან შევარჩიეთ ორი განსხვავებული ეკოლოგიური ნიში – კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკეების მლაშობები.

ალაზნის ველის (კახეთის ვაკე) მარჯვენა ნაპირის სამხრეთ-აღმოსავლეთ ნაწილში, ვაკის შემაღლებულ ადგილსა და სანაპირო ზოლს შორის, დიდ ფართობზე დამლაშებული ნიადაგებია გადაჭიმული. ამ რეგიონში მარილიანობას ნიადაგის მძიმე შემადგენლობა და მინერალიზებული გრუნტის წყლების ვაკის ზედაპირთან ახლომდებარეობა განაპირობებს. აქ ძალზედ მცირე ფართობზეც კი, ერთმანეთს ენაცვლება განსხვავებული დამლაშების ხარისხის და ბიცობიანობის ნიადაგები (1).

ქვემო ქართლის ერთ-ერთი მშრალი ველის – სოღანლუღის ნიადაგებიც მლაშობებს წარმოადგენენ, რადგან იაღლუჯის მთა მარილიანი ქანებისგანაა აგებული. ამ რეგიონისთვის მცირე ზომის მლაშე ტბები და მარილიანი ბორცვებია დამახასიათებელი (1).

ექსპერიმენტის დასაწყისში ვივარაუდეთ, რომ დამლაშების განსხვავებული ხარისხის მქონე ნიადაგებიდან და ტბებიდან გამოყოფილი მიკოფლორა ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოებით იქნებოდა წარმოდგენილი.

3.2 კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გამოყოფა და იდენტიფიკაცია

ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების ძიების მიზნით ნიადაგისა და წყლის ნიმუშები აღებულ იქნა კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკეების მლაშობებიდან, კერძოდ:

1. ალაზნის ველის (კახეთის ვაკე) გეოგრაფიულად დაშორებული ტერიტორიებიდან – ვაკის შუა, ამაღლებული ნაწილიდან და ალაზნის სანაპირო ზოლიდან (ძლიერი დამლაშების ნიადაგები); ჩათმას, ბადიაურისა და ლაკბეს მიმდებარე მლაშობ-ბიცობებიდან (საშუალო ხარისხის დამლაშება) და ვაკის დამლაშებული მასივის პერიფერიული ნაწილიდან (სუსტი დამლაშება).

2. ქვემო ქართლის ვაკის მშრალი ველის – სოღანლუღის გეოგრაფიულად დაშორებული ტერიტორიებიდან: გარდაბნის რაიონის სოფ. კრასნოგორსკისა და კუმისის მარილიანი ტბებიდან, მათი მიმდებარე ნიადაგებიდან, სანაპირო ზოლიდან, ნახევარუდაბნოსა და წყალმცენარეების რიზოსფეროდან, მარილიანი ბორცვებიდან, ტბის შლამიდან და ა.შ. (სურ. 1, 2, 3 და 4).

მიკროსკოპულ სოკოებს გამოვყოფდით 1.0% NaCl-ის შემცველ, განსხვავებული შემადგენლობის აგარიზებულ საკვებ არეებზე (უნივერსალურ, ჩაპეკის შემჟავებულ, ჩაპეკის მოდიფიცირებულ და სახამებლიან არეებზე). უხვი და შედარებით მრავალფეროვანი მიკოფლორით გამოირჩეოდა უნივერსალური აგარიზებული საკვები არე, სადაც ჩვენს მიერ გამოყოფილი ყველა მიკროსკოპული სოკო იზრდებოდა. ამის გამო შემდგომ კვლევებში მიზანშეწონილად მივიჩნიეთ აღნიშნული საკვები არის გამოყენება.

ვაქსმანის პირდაპირი განზავების მეთოდით ნიადაგების ნიმუშების დათესვისას ოპტიმალური აღმოჩნდა 10^2 და 10^3 განზავებები.

სურ. 1. კუმისის ტბა

სურ. 2. კუმისის ტბის მიმდებარე ტერიტორია

მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების რაოდენობაზე ვმსჯელობდით კოლონიების წარმომქმნელი ერთეულის განსაზღვრით (ცხრილები 1, 2). როგორც ცხრილებიდან ჩანს, გარდაბნის რაიონში მრავალრიცხოვანი მიკოფლორით ხასიათდება კუმისის ტბის ნიადაგები (ნიმუში №3), ხოლო ალაზნის ველის ნიადაგებიდან შედარებით მრავალრიცხოვანი მიკოფლორით ვაკის პერიფერიული ნაწილი გამოირჩევა (ცხრილი 3, ნიმუში №6).

ცხრილი 1

ქვემო ქართლის ვაკის (კუმისის ტბის) მლაშობებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების კოლონიების რაოდენობა (1გ მშრალ ნიადაგზე)

ნიმუშის №	ნიმუშის აღების ადგილი	კოლონიების რაოდენობა (კწე)
1	ტბის მიმდებარე ნიადაგის მარილიანი ზედაპირი	$5.0 \cdot 10^3$
2	ნახევარუდაბნოს რიზოსფერო	$1.6 \cdot 10^3$
3	კუმისის ტბის ნიადაგი	$7.0 \cdot 10^3$
4	კუმისის მთის ნიადაგი	$0.2 \cdot 10^3$
5	კუმისის ტბის წყალი	$8.5 \cdot 10^2$

6	მარილიანი ბორცვი	$6.0 \cdot 10^2$

ცხრილი 2

ქვემო ქართლის ვაკის (კრასნოგორსკის ტბის) მლაშობებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების კოლონიების რაოდენობა (1გ მშრალ ნიადაგზე)

ნიმუშის №	ნიმუშის აღების ადგილი	კოლონიების რაოდენობა (კწე)
1	კრასნოგორსკის ტბის ზედა შლამი	$2.0 \cdot 10^2$
2	Mმარილიანი ტბის ნაპირი	$3.5 \cdot 10^2$
3	ნიადაგი დამლაშებული ტბის ქვეშ	$4.2 \cdot 10^2$
4	ნიადაგი ორ მარილიან ტბას შორის	$3.7 \cdot 10$
5	კრასნოგორსკის ტბის წყალი	$2.5 \cdot 10^2$

ცხრილი 3

კახეთის ვაკის (ალაზნის ველის) მლაშობებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების კოლონიების რაოდენობა (1გ მშრალ ნიადაგზე)

ნიმუშის №	ნიმუშის აღების ადგილი	კოლონიების რაოდენობა (კწე)
1	ვაკის შუა, ამაღლებული ნაწილი	$0.2 \cdot 10^2$
2	ალაზნის ველის სანაპირო ზოლი	$0.5 \cdot 10^2$
3	ჩათმა	$2.4 \cdot 10^2$
4	ბადიაური	$4.1 \cdot 10^2$
5	ლაკბე	$5.2 \cdot 10^2$
6	ვაკის პერიფერიული ნაწილი	$9.0 \cdot 10^3$

ექსპერიმენტის შედეგად გამოყოფილია 96 განსხვავებული სახეობის მიკროსკოპული სიკო, მათ შორის 44 – კახეთის, ხოლო 52 – ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებიდან. ამავე დროს, ალაზნის ველის ნიადაგებიდან გამოყოფილ მიკრომიცეტებს შორის 20 ეკუთვნოდა ძლიერ დამლაშებულ, ხოლო 12-12 – საშუალო

და სუსტი დამლაშების ზონებს. სიღნაღის ველის მლაშობებიდან გამოყოფილ მიკრომიცეტებს შორის 32 ეკუთვნოდა კუმისის, ხოლო 20 – კრასნოგორსკის მარილიანი ტბების მიმდებარე ნიადაგებს.

გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების იდენტიფიკაცია მსხვილი ტაქსონომიური ერთეულის (კლასის, რიგის) დადგენით დავიწყეთ, რაც თავის მხრივ რეპროდუქციული ორგანოების აგებულებისა და თავისებურებების დადგენას მოითხოვდა.

არსკისა (153) და კრეზელის (154) კლასიფიკაციაზე დაყრდნობით ქართლისა და კახეთის ვაკეების მლაშობებიდან გამოყოფილი სოკოები *Zygomycetes, Ascomycetes* და *Deiteromycetes* კლასებს მივაკუთვნეთ.

Zygomycetes კლასში გავაერთიანეთ ის მიკროსკოპული სოკოები, რომელიც სქესობრივი გამრავლების გზით წარმოიქმნიდა ზიგოტას, ხოლო უსქესო გზით – სპორანგიუმებს ან სპორანგიოლებს უძრავი სპორებით. ზოგიერთ მიკრომიცეტს კონიდიების განვითარების უნარი აღენიშნებოდა, თუმცა ზიგოტის არსებობის გამო ისინი მაინც *Zygomycetes* კლასს მივაკუთვნეთ.

Ascomycetes კლასში გავაერთიანეთ მიკროსკოპული სოკოების ის კულტურები, რომელიც განვითარების ციკლში სხვადასხვა ფორმისა და სიდიდის "ჩანთებს" წარმოქმნიდა. უმეტეს შემთხვევაში "ჩანთა" 8 ასკოსპორისაგან შედგებოდა. მხედველობაში იქნა მიღებული ის გარემოება, რომ ამ კლასის ზოგიერთ გვარს *(Penicillium, Aspergillus*) გამრავლების რამოდენიმე განსხვავებული ციკლი ახასიათებდა. ამიტომ იდენტიფიცირებისას არსებითი მნიშვნელობა ენიჭებოდა მათი კულტურალური თვისებების შესწავლას, კერძოდ, კოლონიის ზრდის სიჩქარეს, ფერსა და სიდიდეს, კიდეებისა და ცენტრის აღნაგობას, კოლონიიის ზედაპირის ხასიათს (ხავერდოვანი, ფუმფულა, ხაოიანი, ბეწვისებრი), რეპროდუქციული ორგანოების თავისებურებას, კონიდიამტარებლობას, კონიდიების განლაგებას და ა. შ.

Deiteromycetes კლასს მივაკუთვნეთ ის კულტურები, რომელიც კონიდიალურ სპორათა მრავალფეროვანი შერწყმით ხასიათდებოდა და განვითარების ციკლში სქესობრივი სტადია არ აღენიშნებოდა.

მსხვილი ტაქსონომიური ერთეულის – კლასის დადგენის შემდეგ მიკროსკოპული სოკოების მორფო-კულტურალური თვისებების გათვალისწინებით

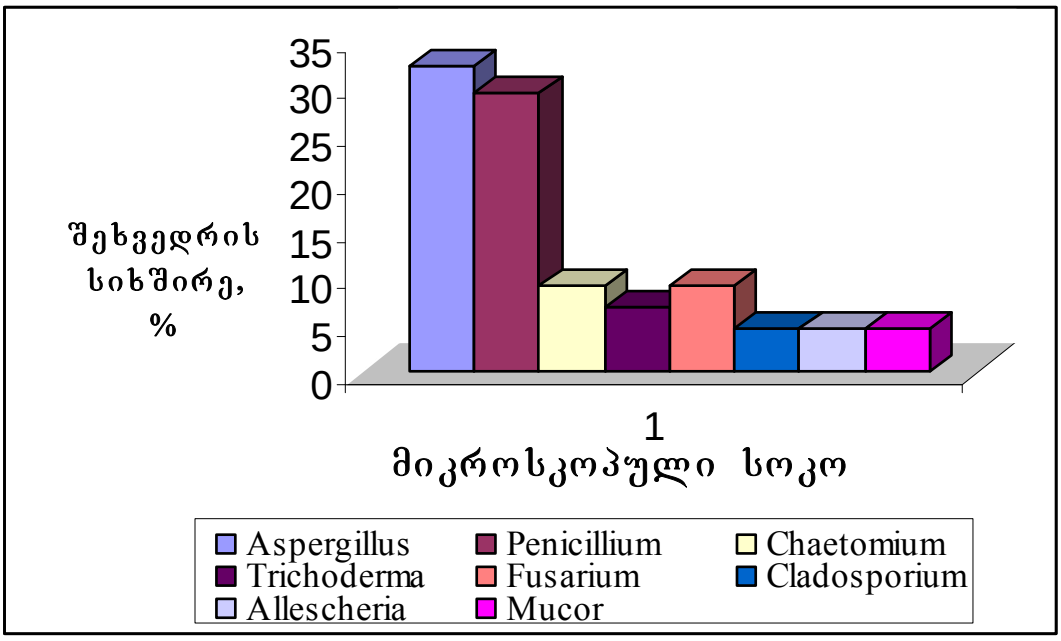
მოხდა გვარების იდენტიფიკაცია, რისთვისაც მივმართავდით სქემას, რომელიც შესასწავლი სახეობის სისტემატიკურ პოზიციაზე იყო დამოკიდებული. სარკვევებზე დაყრდნობით საქართველოს მლაშობ ნიადაგური რაიონებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოები მიეკუთვნა *Aspergillus*-ის, *Chaetomium*-ის, *Penocillium*-ის, *Fusarium*-ის, *Rizopus*-ის *Trichoderma* – ის, *Cladosporium* – ის, *Allescheria*- ს და *Mucor*-ის გვარებს.

ამრიგად, ჩატარებული ექსპერიმენტის შედეგად შექმნილია კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების კოლექცია, რომელიც 96 განსხვავებული სახეობის მიკრომიცეტს ითვლის. ისეთი კოლექციის შექმნას, სადაც წარმოდგენილი იქნება საქართველოს მლაშობი ნიადაგური რეგიონებისათვის დამახასიათებელი მიკროსკოპული სოკოების გენოფონდი, სამრეწველო მასშტაბით დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა ენიჭება.

3.3. ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოები

საქართველოს მლაშობ ნიადაგური რაიონებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების იდენტიფიკაციის შემდეგ შესაძლებელი გახდა მათი ეკოლოგიის შესწავლა. კერძოდ, მიკრომიცეტების სხვადასხვა გვარების გავრცელების კანონზომიერებების დადგენა და დომინანტი გვარების გამოვლენა.

№1 დიაგრამაზე წარმოდგენილია კახეთის ვაკის მარილიან ნიადაგებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გვარები და მათი შეხვედრის სიხშირე.



დიაგრამა 1. კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გვარები და მათი შეხვედრის სიხშირე.

როგორც ჩანს, ალაზნის ველის პირველი რანგის დომინანტს *Ascomycetes* კლასის გვარები – *Aspergillus* და P*enicillium* წარმოადგენს. კახეთის ვაკის მარილიანი ნიადაგები ღარიბი აღმოჩნდა *Zygomycetes* კლასის წარმომადგენლებით. ამ კლასის ერთადერთი გვარი *Mucor*-ი მხოლოდ საშუალო დამლაშების ნიადაგისთვის იყო დამახასიათებელი (ცხრილი 4).

ნიადაგების დამლაშების განსხვავებული ხარისხი არსებით გავლენას ახდენს ალაზნის ველის მლაშობების მიკოფლორის შემადგენლობაზე (ცხრილი 4). სამივე ტიპის (ძლიერი, საშუალო და სუსტი დამლაშების) ნიადაგებში ფართოდ იყო გავრცელებული *Ascomycetes* კლასის ორი გვარი – *Aspergillus* და P*enicillium*. *Aspergillus* –ს სახეობები განსაკუთრებით მაღალი სიხშირით გვხვდებოდა (50%) ძლიერი დამლაშების ზონაში, კერძოდ ვაკის შუა, ამაღლებულ ნაწილში. ამავე დროს ეს გვარი პირველი რანგის დომინანტს წარმოადგენდა მთელ ალაზნის ველზე. გამონაკლისი იყო საშუალო დამლაშების ნიადაგები, სადაც აბსოლუტური დომინანტი P*enicillium*-ის გვარი იყო.

აღსანიშნავია, რომ კახეთის ვაკის გეოგრაფიულად დაშორებული მლაშობები ერთმანეთისგან განსხვავდებოდა მხოლოდ მათთვის დამახასიათებელი "სპეციფიკური" გვარის არსებობით. მაგ. ვაკის

ძლიერ დამლაშებული რეგიონი *Trichoderma* და *Chaetomium*-ის გვარის მიკროსკოპული სოკოებით გამოირჩეოდა (ცხრილი 4). *Cladosporium* და *Mucor* მხოლოდ საშუალი დამლაშების ნიადაგებისთვის იყო დამახასიათებელი, ხოლო სუსტი დამლაშების ზონა *Allescheria*-ს გვარის მიკრომიცეტების არსებობით აღინიშნა (ცხრილი 4).

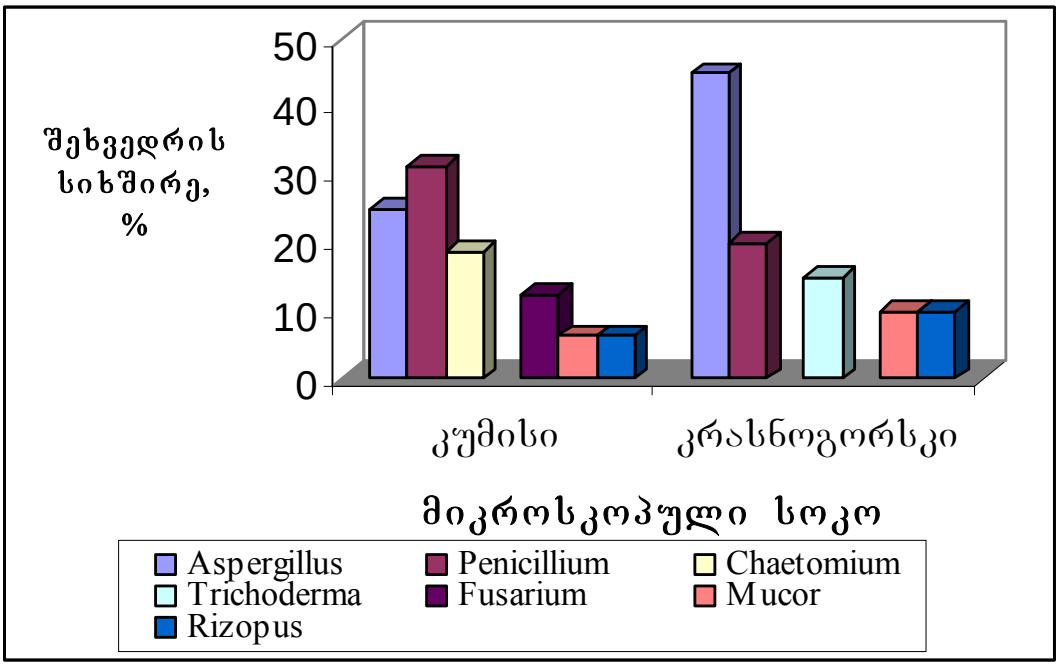
ცხრილი 4

ალაზნის ველის მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები და მათი შეხვედრის სიხშირე

მიკრომიცეტის დასახელება			გვარის შეხვედრის სიხშირე, %			
			ნიადაგის ტიპი			
1	გვარი	კლასი	სუსტი დამლაშება	საშუალო დამლაშება	ძლიერი დამლაშება	
					ალაზნის სანაპირო ზოლი	ვაკის შუა, ამაღლებული ნაწილი
1	*Aspergillus*	*Ascomycetes*	33.33	16.67	25.50	50.00
2	*Penicillium*		16.67	50.00	16.67	25.00
3	*Chaetomium*		-	-	25.00	12.50
4	*Trichoderma*	*Deiteromycetes*	-	-	16.67	12.50
5	*Fusarium*		33.33	-	16.67	-
6	*Cladosporium*		-	16.67	-	-
7	*Allescheria*		16.67	-	-	-
8	*Mucor*	*Zygomycetes*	-	16.67	-	-

№2 დიაგრამა გვიჩვენებს ქვემო ქართლის ვაკის – სოღანლუღის ველის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების შეხვედრის სიხშირეს. როგორც ჩანს, კუმისისა და კრასნოგორსკის მარილიანი ტბების მლაშობებში *Aspergillus* და P*enicillium*-ის გვარები დომინირებს. კუმისის ნიადაგებში არ გვხვდება *Trichoderma*–ს გვარი, რომელიც კრასნოგორსკის მლაშობებისთვის იყო დამახასიათებელი. თავის მხრივ, კრასნოგორსკის მიკოფლორაში არ გვხვდება

Chaetomium-ისა და *Fusarium*-ის გვარები, რომლებიც ნიშანდობლივი იყო კუმისის მარილიანი ნიადაგებისათვის.



დიაგრამა 2. ქვემო ქართლის ვაკის (სოღანლუღის ველის) მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გვარები და მათი შეხვედრის სიხშირე.

ერთმანეთისაგან არა მხოლოდ კუმისისა და კრასნოგორსკის ნიადაგების მიკოფლორაა განსხვავებული, არამედ ერთი და იგივე რეგიონის ერთმანეთისგან გეოგრაფიულად დაშორებული ნიადაგების მიკოფლორაც (ცხრილები 5, 6).

კუმისის ტბის მიმდებარე მლაშობების დომინანტს წარმოადგენდა *Aspergillus* და P*enicillium*-ის გვარები (ცხრილი 5). *Aspergillus*-ის გვარი არ გვხვდება მხოლოდ კუმისის მთისა და მარილიანი ბორცვის ნიადაგებში, ხოლო P*enicillium*-ის გვარი არ იყო გავრცელებული მხოლოდ კუმისის ტბის წყალში.

ერთფეროვანი და მიკროსკოპული სოკოების მხოლოდ ერთი გვარის დომინირებით გამოირჩეოდა კუმისის ტბის წყალი, სადაც ერთადერთი გავრცელებული გვარი იყო *Aspergillus*-ი და მარილიანი ბორცვი – ერთადერთი გვარით P*enicillium* (ცხრილი 5).

ცხრილი 5

კუმისის ტბის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გვარები

და მათი შეხვედრის სიხშირე

მიკროსკოპული სოკო		შეხვედრის სიხშირე, %					
		გამოყოფის ადგილი					
გვარი	კლასი	ნიადაგის მარილიანი ზედაპირი	ნახევარ-უდაბნოს რიზოსფერო	ტბის მარილიანი ნიადაგი	კუმისის მთის ნიადაგი	ტბის წყალი	მარლიანი ბორცვი
1.Aspergillus *2.Chaetomium* *3. Penicillium*	Ascomycetes	53.0 44.5 2.5	16.6 - 50.0	50.0 - 5.0	- 50.0 25.4	100 - -	- - 100
4. Fusarium	Deiteromycetes	-	33.4	-	-	-	-
5. Mucor *6.Rizopus*	Zygomy-cetes	- -	- -	- 45.0	25.0 -	- -	- -

ნახევარუდაბნოს მცენარეების რიზოსფეროსთვის დამახასიათებელი იყო *Fusarium*-ის გვარის მიკროსკოპული სოკოები; ტბის მარილიანი ნიადაგებისთვის – *Rizopus* – ის გვარი, ხოლო კუმისის მთის ნიადაგებისთვის - *Mucor*-ის გვარის წარმომადგენლები (ცხრილი 5).

[1]6 ცხრილში წარმოდგენილია კრასნოგორსკის ნიადაგებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოები და მათი შეხვედრის სიხშირე. ამ რეგიონის მიკოფლორაშიც დომინირებდა *Aspergillus* და P*enicillium*-ის გვარები, რომლებიც კრასნოგორსკის თითქმის ყველა მარილიან ნიადაგში გვხვდებოდა. კუმისის მარილიანი ტბის წყლის მსგავსად, კრასნოგორსკის ტბის წყალშიც აბსოლუტურ დომინანტს *Aspergillus*-ის გვარი წარმოადგენდა, თუმცა მისგან განსხვავებით, კრასნოგორსკის ტბის მარილიან წყლებში P*enicillium*-ის გვარის წარმომადგენლებსაც ვხვდებოდით (ცხრილი 6). ექსპერიმენტის შედეგები შესაბამისობაში აღმოჩნდა ლიტერატურაში არსებულ ინფორმაციასთან, რომლის მიხედვითაც ნიადაგებში ყველაზე ფართოდ

გავრცელებულია მიკროსკოპული სოკოების შემდეგი გვარების წარმომადგენლები: *Aspergillus*, P*enicillium*, *Fusarium, Trichoderma, Mucor, Rizopus*.

ცხრილი 6

კრასნოგორსკის ტბის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გვარები
და მათი შეხვედრის სიხშირე

მიკროსკოპული სოკო		შეხვედრის სიხშირე, %				
		გამოყოფის ადგილი				
გვარი	კლასი	ტბის ზედა შლამი	ტბის ნაპირი	ნიადაგი დამლაშებული ტბის ქვეშ	ნიადაგი ორ მარილიან ტბას შორის	ტბის წყალი
1.Aspergillus	Ascomycetes	40.00	100	25.00	-	75.00
2.Penicillium		20.00	-	25.00	75.00	25.00
3.Trichoderma	Deiteromycetes	-	-	-	-	-
5. Mucor	Zygomycetes	-	-	50.00	25.00	-
6.Rizopus		40.00		-	-	-

3.4. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა

ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკეების მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების კოლექციის შექმნის შემდეგ ექსპერიმენტის მიზანს კოლექციის ცალკეული შტამების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა წარმოადგენდა სხვადასხვა პარამეტრების (მაღალი და დაბალი ტემპერატურა, pH, მარილის მაღალი და დაბალი კონცენტრაციები მიხედვით.

3.5. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა ტემპერატურის მიხედვით

გარემოს არახელსაყრელ ტემპერატურულ პირობებთან მიკროორგანიზმების ადაპტაციის მექანიზმების შესწავლისათვის და აღნიშნულ პირობებში ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების პერსპექტიული პროდუცენტების დადგენისათვის მსოფლიო მკვლევართა ინტერესს იწვევს თერმოფილური და ფსიქროფილური მიკროორგანიზმების ახალი შტამების გამოვლენა. გასათვალისწინებელია ის ფაქტიც, რომ მარილის მაღალი კონცენტრაციისადმი რეზისტენტული ფორმების ჰალოფილობის ხარისხის დადგენა არსებითად დამოკიდებულია სხვადასხვა ტემპერატურის პირობებში მიკროორგანიზმთა მარილის მოთხოვნილებისა და გამძლეობის უნარზე. აღნიშნულ გარემოებათა გათვალისწინებით, კოლექციის კულტურების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა მათი სასიცოცხლო ტემპერატურული საზღვრებისა და ტემპერატურული ოპტიმუმის შესწავლით დავიწყეთ. ამ მიზნით მიკროსკოპულ სოკოებს ვზრდიდით 1% NaCl-ის შემცველ, წინასწარ შერჩეულ, უნივერსალურ აგარიზებულ საკვებ არეებზე, ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში 0-დან 55°C-მდე, 5°C-იანი ინტერვალით.

№7 ცხრილში დახასიათებულია კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოები კულტივირების ტემპერატურის მიხედვით.

ცნობილია, რომ ბუნებაში არსებულ მიკროორგანიზმთა უმრავლესობა მეზოფილია. ჩვენს ექსპერიმენტებშიც ალაზნის ველის მლაშობებიდან გამოყოფილი 44 მიკრომიცეტიდან 36 მეზოფილი აღმოჩნდა, რომელთა ზრდის ოპტიმუმი 28-30°C-ს შეადგენდა (ცხრილი 7).

კრიტიკულ ტემპერატურასთან მიახლოებისას საკვლევი სოკოების უმრავლესობა მკვეთრად იცვლიდა მორფოლოგიურ და კულტურალურ თვისებებს. ამავე დროს, სხვადასხვა გვარის სოკოები განსხვავებულად რეაგირებდა ტემპერატურის ცვალებადობაზე. მაგ. *Fuzarium*-ის გვარის ზოგიერთ სახეობას (*Fuzarium* sp A7, *Fuzarium*. spA9*, Fuzarium* sp A43) სპორების დეგენერაცია აღენიშნებოდა; *Mucor*-ის გვარის შტამს – *Mucor* sp. A.-23-ს 35°C-ის ზემოთ ფუმფულა მიცელიუმი ტყავისებურით ეცვლებოდა*; Aspergillus* spA28*, Aspergillus.* spA-3*, Aspergillus.* sp A-4 სპორათა შერწყმა ეზღუდებოდა, ხოლო ამ გვარის ზოგიერთი კულტურა (*Aspergillus* spA30, *Aspergillus* spA-29) შეფერილობასაც კი იცვლიდა (სურ.

5-10). ტემპერატურის ვარირებით გამოწვეული მსგავსი მორფოლოგიური ცვლილებები მრავალი ავტორის მიერაა აღწერილი.

ცხრილი 7

კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ჯგუფები კულტივირების ტემპერატურის მიხედვით

მიკროსკოპული სოკო	კულტურის ზრდის ტემპერატურული დიაპაზონი	ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა, °C	მიკრომიცეტის ჯგუფი ტემპერატურის მიხედვით
1	2	3	4
1. Aspergillus sp A-1	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
2.Aspergillus sp A-2	20°C-55°C	40°C-45°C	თერმოფილი
3.Aspergillus sp A-3	15°C-45°C	28°C-32°C	მეზოფილი
4.Aspergillus sp A-4	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
5.Aspergillus sp A-13	15°C-40°C	28°C	მეზოფილი
6.Aspergillus sp. A-14	15°C-45°C	25°C	მეზოფილი
*7.Aspergillus.*sp.A-25	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
8.Aspergillus sp. A-26	20°C-55°C	40°C-45°C	თერმოფილი
9.Aspergillus sp. A-27	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
10.Aspergillus sp. A-28	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
11.Aspergillus sp. A-29	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
12.Aspergillus sp. A-30	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
13.Aspergillus sp. A-31	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
14.Penicillium sp. A-5	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
15.Penicillium sp. A-6	15°C-45°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
*16.Penicillium*sp. A-15	15°C-45°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
17.Penicillium sp. A-16	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
18.Penicillium sp. A-17	15°C-40°C	25 °C -30°C	მეზოფილი

19.Penicillium sp. A-18	15°C-40°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
20. Penicillium sp. A-20	15°C-40°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
21.Penicillium sp.A-20	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
22.Penicillium sp. A-32	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
23.Penicillium sp. A-33	15°C-40°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
24.Penicillium sp. A-34	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
25.Penicillium sp.A-35	20°C-55°C	30°C	მეზოფილი
26.Chaetomium. sp. A-36	15°C-40°C	40°C-45 °C	თერმოფილი
27.Chaetomium sp. A-37	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
28.Chaetomium sp. A-38	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
29.Chaetomium sp. A-39	15°C-40°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
30.Allescheria sp. A-11	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
31.Allescheria sp. A-12	15°C-40°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
32.Cladosporium sp. A-21	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
33.Cladosporium sp. A-22	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
34.Fusarium sp. A-7	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
35.Fusarium sp. A-8	15°C-40°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
36.Fusarium sp. A-9	5°C-40°C	30°C	მეზოფილი
37.Fusarium sp. A-10	5°C-40°C	10°C-20 °C	ფსიქროტოლერანტი
38. *Fusarium* sp. A-43	15°C-45°C	10°C-20 °	ფსიქროტოლერანტი
39.Fusarium sp. A-44	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
40.*Trichoderma* sp. A-40	15°C-55°C	20°C-35 °C	თერმოტოლერანტი
4*1.Trichoderma* sp. A-41	15°C-55°C	20°C-35 °C	თერმოტოლერანტი
42.*Trichoderma* sp. A-42	15°C-40°C	20°C-35 °C	თერმოტოლერანტი

43 *Mucor* sp. A-23	15°C-45°C	20 °C -30°C	მეზოფილი
44.*Mucor* sp. A-24	15°C-45°C	20°C -30°	მეზოფილი

ექსპერიმენტის საფუძველზე კახეთის ვაკის მლაშობებიდან გამოყოფილ მიკროსკოპულ სოკოებს შორის გამოვლენილია 8 ექსტრემოფილი ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მიხედვით. აქედან 3 კულტურა - *Aspergillus* sp A-2, *Aspergillus* sp *A-26* და *Chaetomium* sp A-36 თემოფილურ მიკროორგანიზმებს წარმოადგენდა, რომელთა ზრდის ტემპერატურული ოპტიმუმი 40°-45°C-ს შეადგენდა, ხოლო სასიცოცხლო საზღვრები 20 °C -დან 55 °C -ის დიაპაზონში იყო მოთავსებული (ცხრილი 7).

შერჩეული ექსტრემოფილებიდან ორი მიკროსკოპული სოკო – *Fuzarium* sp A10 და *Fuzarium* sp A43 დაბალ ტემპერატურაზე (5°C-ზე) იზრდებოდა და ამავე დროს ზრდის უნარს 40°C-ზეც ამჟღავნებდა. ამის გამო ეს ორი მიკრომიცეტი კლასიფიცირდება როგორც ფსიქროტოლეტანტი.

ობლიგატური ფსიქროფილი, რომელიც უპირატესობას დაბალ ტემპერატურაზე ზრდას ანიჭებს და ვეღარ იზრდება 20°C-ის ზემოთ, კახეთის ვაკის მლაშობების მიკროფლორაში არ გამოვლენილა.

Trichoderma-ს გვარის სამივე კულტურა: *Trichoderma*. sp A 40; *Trichoderma* sp A41 და *Trichoderma* sp A 42 ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში (15°C-დან 55°C-მდე) ზრდის უნარის გამო თერმოტოლერანტების ჯგუფში გავაერთიანეთ (ცხრილი 7).

[1]8 ცხრილში წარმოდგენილია ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოები კულტივირების ტემპერატურაზე დამოკიდებულიების მიხედვით. კახეთის ვაკის მლაშობების მიკოფლორის მსგავსად, ქვემო ქართლის ვაკის მარილიანი ნიადაგების მიკოფლორის უმრავლესობაც მეზოფილური კულტურებით იყო წარმოდგენილი: 52 მიკრომიცეტიდან 40 სახეობის ზრდის ტემპერატურული ოპტიმუმი 28-32°C-ს შეადგენდა.

ექსპერიმენტის საფუძველზე ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებიდან გამოყოფილ მიკროსკოპულ სოკოებს შორის შეირჩა 10 ექსტრემოფილი ტემპერატურის მიხედვით; მათ შორის ოთხი თერმოფილი – *Aspergillus* sp K1,

Aspergillus sp K2,*Trichoderma* sp K26 და *Chaetomium* sp KM 13. ამათგან პირველი სამი კულტურა კრასნოგორსკის მლაშობებიდან იქნა მიღებული, ხოლო *Chaetomium* sp KM 13–კუმისის მარილიანი ტბების მიმდებარე ნიადაგებიდან (ცხრილი 8). ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში (15 °C-დან 55 °C-მდე) ზრდის უნარით გამოირჩეოდა *Aspergillus niger* KM-2-2, *A. niger* KM6 და *Penicillium* sp K 9, რის გამოც აღნიშნული კულტურები თერმოტოლერანტთა ჯგუფში გავაერთიანეთ (ცხრილი 8). შევნიშნავთ, რომ *Aspergillus*-ის გვარის თერმოტოლერანტები კუმისის მლაშობებიდან იქნა მიღებული, ხოლო *Penicillium* sp K 9 კრასნოგორსკიდან.

ქვემო ქართლის ვაკის ექსტრემოფილებს შორის ფსიქროფილები გამოვლინდა მხოლოდ კუმისის მარილიანი ნიადაგების მიკოფლორაში, კერძოდ, ორი მიკროსკოპული სოკო *Fusarium* sp KM 3-1 და *Fusarium* sp KM 18 იზრდებოდა 5°C -დან 35°C–მდე ტემპერატურულ დიაპაზონში, რის გამოც კლასიფიცირდა როგორც ფსიქროტოლერანტები.

ცხრილი 8

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა ტემპერატურის მიხედვით

მიკროსკოპული სოკო	კულტურის ზრდის ტემპერატურული დიაპაზონი	ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა, °C	მიკრომიცეტის ჯგუფი ტემპერატურის მიხედვით
1	2	3	4
1.Aspergillus niger K10-15	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
2.A. niger K 2-12	15°C-35°C	25°C-30°C	მეზოფილი
3.A.niger K 8-16	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
4.A. niger K 2-1	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
5.Aspergillus flavus K2-8	15°C-40°C	25°C-30 °C	მეზოფილი
6.Aspergillus sp. K-1	25°C-55°C	45°C	თერმოფილი
7.Aspergillus sp. K-2	20°C-55°C	45°C	თერმოფილი

8.Aspergillus sp. K-3	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
9.Aspergillus sp. K-4	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
10. A.niger K M6	15°C-55°C	40 °C	თერმოტოლერანტი
11. A.niger K M11-18	15°C-35°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
12. A.niger KM2-5	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
13. A.niger K M2-2	15°C-45°C	40 °C	თერმოტოლერანტი
14.Penicillium sp. KM-5	15°C-45°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
15.Penicillium sp.KM-6	10°C-45°C	30°C	მეზოფილი
16.Penicillium sp.KM-7	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
17.Penicillium sp.KM-8	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
18.Penicillium sp. K-5-13	15°C-35 °C	25 °C -30°C	მეზოფილი
19.Penicillium sp.K-9	15°C-55°C	40°C	თერმოტოლერანტი
20. Penicillium sp.K-3-3	20°C-45°C	30°C	მეზოფილი
21.Penicillium sp.K6-2	15°C-40°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
22.Penicillium sp.KM-19	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
23.Penicillium sp.KM3-17	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
24.Penicillium sp.KM4-4	15°C-35°C	25 °C -30°C	მეზოფილი
25.Penicillium sp.KM6-3	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
26. Penicillium sp.KM6-1	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
27. Penicillium sp.KM-10	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
28. Penicillium sp.K-111	15°C-40°C	28 °C -30°C	მეზოფილი
29. Penicillium sp. KM-12	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
30. Penicillium sp.KM-27	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
31. Penicillium sp.KM-28	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
32.Trichoderma sp. K2-3	15°C-40°C	28 °C -30°C	მეზოფილი

33. Trichoderma sp. K2-6	25°C-55°C	45°C	თერმოფილი
34.T. lignrtum K2-7	15°C-45°C	28 °C -30°C	მეზოფილი
35.Chaetomium sp.KM4-2	25°C-55°C	30°C	მეზოფილი
36. Chaetomium sp.KM-13	15°C-40°C	45 °C	თერმოფილი
37. Chaetomium sp.KM-14	15°C-35°C	30°C	მეზოფილი
38. Chaetomium sp.KM-15	15°C-40°C	28°C-30 °C	მეზოფილი
39. Chaetomium sp.KM-16	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
40. Chaetomium sp.KM-17	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
41.Fusarium sp.KM3-1	5°C-40°C	10°C-15 °C	ფსიქროტოლერანტი
42. Fusarium sp.KM3-5	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
43. Fusarium sp.KM6-	15°C-45°C	28 °C -30°C	მეზოფილი
44. Fusarium sp.KM-18	5°C-40°C	10°C -15°	ფსიქროტოლერანტი
45.Mucor sp. K-1	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
46. Mucor sp. K-20	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი
47. Mucor sp. K-21	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
48. Mucor sp.K-22	0°C-20°C	10°C	ფსიქროფილი
49.Rizopus sp. K-23	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
50. Rizopus sp. K-24	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
51. Rizopus sp. K-25	15°C-45°C	30°C	მეზოფილი
52. Rizopus sp. K-26	15°C-40°C	30°C	მეზოფილი

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებიდან გამოყოფილ მიკრომიცეტებს შორის ერთადერთ კულტურას *Mucor* sp KM 22-ს არ შესწევდა 20°C–ის ზემოთ ზრდის უნარი და ადაპტირებული იყო დაბალ ტემპერატურასთან, რის გამოც აღნიშნული შტამი ობლიგატური ფსიქროფილების ჯგუფს მივაკუთვნეთ.

ამრიგად, ჩატარებული ექსპერიმენტის საფუძველზე საქართველოს მლაშობებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების კოლექციაში გამოვლენილია

18 ექსტრემოფილი ტემპერატურის მიხედვით, მათ შორის 7 – თერმოფილი, 4 – ფსიქროტოლერანტი, 6 – თერმოტოლერანტი და ერთი – ობლიგატური ფსიქროფილი.

3.6. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ჰალოფილობის ხარისხის დადგენა

ჰალოფილური მიკროორგანიზმების საერთო თვისება მარილისადმი მოთხოვნილება და რეზისტენტულობაა. ეს ორი პარამეტრიც ყველა სახეობისათვის ინდივიდუალურია და კულტივირების ტემპერატურისა და საკვები არის შემადგენლობის მიხედვით იცვლება. ავტორთა უმრავლესობა მიუთითებს, რომ ჰალოფილობის ხარისხის დადგენა აუცილებლად მიკროორგანიზმის ზრდის სასიცოცხლო ტემპერატურულ დიაპაზონში უნდა წარიმართოს (134).

საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკოფლორის ჰალოფილობის ხარისხის დადგენის მიზნით, უნივერსალურ აგარიზებულ საკვებ არეზე, NaCl-ის კონცენტრაციების ფართო დიაპაზონში (0-დან 4M) გამოკვლეულ იქნა კოლექციის შტამების მარილისადმი გამძლეობა და მოთხოვნილება კულტივირების ტემპერატურაზე დამოკიდებულებით. ასევე დადგენილ იქნა NaCl-ის ოპტიმალური კონცენტრაციები მიკროსკოპული სოკოების კულტივირების ოპტიმალური ტემპერატურის პირობებში. აღნიშნული პარამეტრები საფუძვლად დაედო კოლექციის შტამების კლასიფიკაციას სუსტ, ზომიერ ჰალოტოლერანტულ და ექსრტრემალურ ჰალოფილებად. კერძოდ, ზომიერი ჰალოფილების ჯგუფში გავაერთიანეთ მიკროსკოპული სოკოების ის კულტურები, რომელიც არსებობისათვის სულ მცირე 0.5M NaCl-ს მაინც მოითხოვდა და უძლებდა 3M NaCI-ის კონცენტრაციას (NaCl-ის ოპტიმალური კონცენტრაცია 2.5M-ს შეადგენდა).

ექსტრემალურ ჰალოფილებად მივიჩნევდით კულტურებს, რომელიც არსებობისათვის სულ მცირე 1M NaCl-ს მაინც მოითხოვდა და უძლებდა 4M-ს (NaCl-ის ოპტიმალური კონცენტრაცია 3.0 M).

ჰალოტოლერანტული მიკრომიცეტები NaCl-ის 0.5M-ზე ნაკლები კონცენტრაციის პირობებშიც იზრდებოდა და ამავე დროს მდგრადობას იჩენდა მარილის მაღალი კონცენტრაციებისადმი (2.5M-ზე ზევით).

სუსტი ჰალოფილების გამძლეობის საზღვარი არ აღემატებოდა NaCl-ის 2M-ს. როგორც კვლევის საწყის ეტაპზე ვივარაუდეთ, ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკეების მლაშობები მართლაც ჰალოფილების "საბადო" აღმოჩნდა. შექმნილი კოლექციის 96 შტამიდან მეტ-ნაკლები ხარისხით ყველა ჰალოფილი იყო (ცხრილები 9, 10).

ნიადაგის მარილიანობის განსხვავებული ხარისხი (ძლერი, საშუალო და სუსტი დამლაშება) არსებითად განაპირობებდა მასზე ადაპტირებული მიკროსკოპული სოკოების ჰალოფილობის ხარისხს: ძლიერი დამლაშების ზონის მიკოფლორაში საერთოდ არ ვხვდებით სუსტ ჰალოფილებს, არამედ უმრავლესობას ჰალოტოლერანტები (11 კულტურა) შეადგენდა. ექსტრემალური ჰალოფილები მხოლოდ ამ რეგიონისთვის იყო დამახასიათებელი (ცხრილი 9). კახეთის ვაკის მლაშობების 16 ზომიერი ჰალოფილიდან 10 საშუალო დამლაშების ნიადაგებიდან იქნა გამოყოფილი. სუსტი დამლაშების ზონის მიკროსკოპული სოკოების უმრავლესობა, შესაბამისად სუსტ ჰალოფილს წარმოადგენდა (ცხრილი 9).

№9 ცხრილში წარმოდგენილია კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები. ექსპერიმენტის შედეგად გამოვლენილია 4 ექსტრემალური, 14 ჰალოტოლერანტული. 16 ზომიერი და 10 სუსტი ჰალოფილი. 4 ექსტრემალური ჰალოფილიდან სამი *Aspergillus*-ის გვარს ეკუთვნოდა, ერთი – *Chaetomium*-ს. ჰალოტოლერანტების ჯგუფი *Aspergillus*-ის, *Fusarium*-ის, *Allescheria*-სა და *Penicillium*-ის გვარის კულტურებმა შეადგინა. ზომიერი ჰალოფილები არ გვხვდებოდა მხოლოდ *Allescheria*-სა და *Fusarium*-ის გვარებში (ცხრილი 9).

კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილების ზოგიერთი წარმომადგენელი ექსტრემოფილი აღმოჩნდა ტემპერატურული პარამერტის მიხედვითაც (ცხრილი 7): ექსტრემალური ჰალოფილი *Aspergillus sp A26* და ჰალოტოლერანტი *Chaetimium sp* A36 ჩვენს მიერ ადრე ჩატარებულ ექსპერიმენტში დახასიათდნენ როგორც თერმოფილები.

ზოგიერთი ავტორის მონაცემებით, მლაშობებში ჰალოტოლერანტული ფორმები რაოდენობრივად აჭარბებს სუსტ და ზომიერ ჰალოფილებს. ჩვენს ექსპერიმენტებშიც, ქვემო ქართლის ვაკის მარილიან ნიადაგებში გავრცელებული მიკოფლორის უმრავლესობას ჰალოტოლერანტული მიკრომიცეტები შეადგენდა (ცხრილი 10). ექსპერიმენტის საფუძველზე კუმისისა და კრასნოგორსკის მარილიანი

ტბების მლაშობებიდან გამოვლენილია 25 ჰალოტოლერანტი, 7 – ექსტრემალური, 12 – ზომიერი და 8-სუსტი ჰალოფილი.

ცხრილი 9

კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები

მიკროსკოპული სოკო	გამოყოფის ადგილი	NaCl-ის მიმართ მდგრადობის საზღვრები (M)	NaCl-ის ოპტიმალური კონცენტრაცია (M)	კულტურის დახასიათება
1	2	4	5	8
1.*Aspergillus* sp. A25	ძლიერი დამლაშების ზონა	1M-4M	3M	ექსტრემალური
2. *Aspergiluus* sp. 26		1M-4M	3M	ექსტრემალური
3. *Aspergiluu* sp. A27		0.2M-3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
4. *Aspergiluus* sp. A28		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
5. *Aspergiluus* sp. A29		1M-4M	3M	ექსტრემალური
6. *Aspergiluu* sp.A30		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
7. *Aspergiluus* sp. A31		0,2M-3M	3M	ჰალოტოლერანტი
8.*Penicillium* sp. A32		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
9. *Penicillium* sp. A33		0.2M-3.5M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
10. *Penicillium* sp. A34		0.2M-3.5M	3M	ჰალოტოლერანტი
11. *Penicillium* sp. A35 12.*Chaetomium* sp. A 37		0.2M- 4M 0.2 M -3.5M	3M 3M	ჰალოტოლერანტი ჰალოტოლერანტი
13. *Chaetomium* sp.A36		0.2 M -3.5M	3M	ჰალოტოლერანტი

14. *Chaetomium* sp. A38		0.2 M -3.5M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
15. *Chaetomium* sp. A39		0.5 M -3M	3M	ზომიერი
16.*Fusarium* sp. A 43		1 M - 4M	3M	ექსტრემალური
17. *Fusarium* sp. A44		0.2M-3M	3M	ჰალოტოლერანტი
18.*Trichoderma* sp. A40		0.2M-3M	3M	ჰალოტოლერანტი
19. *Trichoderma* sp. A41		0.2M-3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
20. *Trichoderma* sp. A42		0.5M-3.5M	3M	ზომიერი
21.*Aspergiluus* sp. A.13	საშუალო დამლაშების ზონა	0.5M-3M	3M	ზომიერი
22. *Aspergiluus* sp. A.14		0.5M-3M	3M	ზომიერი
23. *Penicillium* sp. A15		0.2M-3M	3M	ჰალოტოლერანტი
24 *Penicillium* sp. A16		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
25. *Penicillium* sp. A17		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
26. *Penicillium* sp. A18		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
27. *Penicillium* sp.A19		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
28. *Penicillium* sp. A20		0.2M-3.5M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
29.*Cladosporium* sp. A21		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
30. *Cladosporium* sp. A22		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
31.*Mucor* sp. A23		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
32. *Mucor* sp. A24		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
33.*Aspergiluus* sp. A1	ზონა	0.2M-2M	1.5M	სუსტი
34.*Aspergiluus* sp. A2		0.2M-2M	1.5M	სუსტი

35.*Aspergiluus* sp.A3		0.1M-2M	1.5M	სუსტი
36. *Aspergiluus* sp.A4		0.1M-2M	1.5M	სუსტი
37. *Penicillium* sp.A5		0.2-2.5M	1.5M	სუსტი
38. *Penicillium* sp. A6		0.5M-3M	2.5M	ზომიერი
39.*Aspergiluus* sp. A11		0.2-2.5M	1.5M	სუსტი
40.*Aspergiluus* sp. A12		0.1-2M	1.5M	სუსტი
41. *Fusarium* sp.A7		0.15-0.2M	1.5M	სუსტი
42. *Fusarium* sp. A8		0.1-2.5M	1.5M	სუსტი
43. *Fusarium* sp. A9		0.1-2.5M	1.5M	სუსტი
44. *Fusarium* sp.A10		0.2-3M	2M	ჰალოტოლერანტი

ცხრილი 10

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები

მიკროსკოპული სოკო	NaCl-ის მიმართ მდგრადობის საზღვრები	NaCl-ის ოპტიმალური კონცენტრაცია	კულტურის დახასიათება
1	2	3	4
*1.Aspergillus niger*K10-15	0.2 M -3M	3M	ჰალოტოლერანტი
2.A. niger K 2-12	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
3.A.niger K 8-16	0.2 M -3.5M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
4.A. niger K 2-1	1 M -4M	3M	ექსტ. ჰალოფილი
5.Aspergillus flavus K2-8	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
6.Aspergillus sp. K-1	1 M -4M	3M	ექსტ. ჰალოფილი
7.Aspergillus sp.K-2	0.2M -4M	3M	ჰალოტოლერანტი
8.Aspergillus sp. K-3	0.2 M -2.0M	1M	სუსტი ჰალოფილი
9.Aspergillus sp. K-4	0.5 M -3.5M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
10. A.niger K M6-11	0.5 M -2M	1M	სუსტი ჰალოფილი

11. A.niger K M11-18	1 M -4M	3M	ექსტრემალ. ჰალოფილი
12. A.niger KM2-5	0.3 M -2.0M	1M	სუსტი ჰალოფილი
13. A.niger K M2-2	0.2 M -2.5M	2M	ჰალოტოლერანტი
14.Penicillium sp. KM-5	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
15.Penicillium sp. KM-6	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი
16.Penicillium sp. KM-7	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
17.Penicillium sp. KM-8	0.2 M -3M	3M	ჰალოტოლერანტი
18.Penicillium sp. K-5-13	0.2 M -4M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
19.Penicillium sp. K-9	1 M -4M	3M	ქსტრემ. ჰალოფილი
20.Penicillium sp. K3-3	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
21.Penicillium sp. K6-2	0.2M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
22.Penicillium sp. KM-19	0.2 M -2.0M	1M	სუსტი ჰალოფილი
23.Penicillium sp. KM3-17	0.2 M -4M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
24.Penicillium sp. KM4-4	1 M -4M	3M	ექსტრემალური ჰალოფ.
25.Penicillium sp.KM6-3	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
26. Penicillium sp. KM6-1	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
27 Penicillium sp. KM-10	1 M -4M	3M	ექსტრემალური ჰალოფ.
28. Penicillium sp. K-12	0.2M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
29. Penicillium sp. KM-11	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
30. Penicillium sp KM-27	0.2 M -4M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
31. Penicillium sp.KM-28	0.2 M -4M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
32.Trichoderma sp. K2-3	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
33. Trichoderma sp. K2-6	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
34.T. lignrtum K2-7	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
35.Chaetomium sp. KM4-2	0.2 M -3.5M	2.5M	ჰალოტოლერანტი

36.Chaetomim sp.KM1-3	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
37. Chaetomium sp.KM-14	0.5 M -3M	2M	სუსტი ჰალოფილი
38. Chaetomium sp. KM-15	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
39. Chaetomium sp. KM-16	0.5 M -3M	0.5-3M	ზომიერი ჰალოფილი
40. Chaetomium sp.KM-17	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
41.Fusarium sp. KM3-1	0.2 M -4M	3M	ჰალოტოლერანტი
42. Fusarium sp. KM3-5	1 M -4M	3M	ექსტრემ. ჰალოფილი
43. Fusarium sp. KM6-1	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
44. Fusarium sp.KM-18	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
45.Mucor sp. K-19	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
46. Mucor sp. K-20	0.5 M -3M	2.5M	ზომიერი ჰალოფილი
47. Mucor sp. K-21	0.5 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
48. Mucor sp. K-22	0.2 M -2.0M	1.5M	სუსტი ჰალოფილი
49.Rizopus sp. K-23	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
50. Rizopus sp.K-24	0.2 M -2M	1M	სუსტი ჰალოფილი
51. Rizopus sp. K-25	0.2 M -3M	2.5M	ჰალოტოლერანტი
52. Rizopus sp. K-26	0.2 M -2M	1M	სუსტი ჰალოფილი

ჩვენს მიერ იდენტიფიცირებული სოკოების ყველა გვარში ვხვდებოდით ჰალოტოლერანტულ ფორმებს, განსაკუთრებით მაღალი სიხშირით კი *Aspergillus*-ის (9 კულტურა) და *Penicillium*-ის (7 კულტურა) გვარებში (ცხრილი 10). ექსტრემალური ჰალოფილები ძირითადად *Aspergillus*-ის, *Penicillium*-ისა და *Fusarium*-ის გვარის მიკროსკოპული

სოკოების წარმომადგენლები იყო. ზომიერი ჰალოფილები არ ახასიათებდა *Fisarium*-ისა და *Rizopus*-ის გვარებს, სუსტი ჰალოფილები კი მხოლოდ *Fuzarium*-ს.

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებულ ჰალოფილებს შორის მიკროსკოპული სოკოს 9 კულტურა ექსტრემოფილი აღმოჩნდა ტემპერატურული პარამეტრის მიხედვითაც (ცხრილი 8).

ჰალოფილობის მაღალი ხარისხით შეფასდა *Aspergillus*-ის გვარის ორი თერმოფილი (*Apergillus sp K.*-1 და *Aspergillus* sp K-2) და ორი თერმოტოლერანტი *(Aspergillus* sp K M2-2 *და Aspergillus* sp KM-6).

ზომიერ ჰალოფილებად კლასიფიცირდა *Trichoderma* sp K-26 და *Chaetomium* sp KM-1-3 თერმოფილური მიკრომიცეტები. ექსტერმალური ჰალოფილი იყო თერმოტოლერანტი *Penicillium* sp K-9; ხოლო *Fusarium*-ის გვარის ფსიქროტოლერანტები *Fusarium* sp KM3-*1* და *Fusarium*-. sp KM18–დახასიათდნენ როგორც ჰალოტოლერანტები.

ამრიგად, ჩატარებული ექსპერიმენტის შედეგად, ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკეების მლაშობებიდან მიკროფლორაში განსაზღვრულია 39 ჰალოტოლერანტი, 11-ექსტრემალური, 28-ზომიერი და 18-სუსტი ჰალოფილი.

3.7.საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემიფილობის ხარისხის დადგენა pH-ის მიხედვით

ცნობილია, რომ მიკროორგანიზმთა სასიცოცხლო საზღვრებს საარსებო გარემოს pH განსაზღვრავს. ბუნებაში უფრო ხშირად გვხვდება ნეიტრალურთან ახლო pH-ის, ან საშუალო მჟავიანობის ეკოსისტემები, რის გამოც მიკროორგანიზმთა უმრავლესობა pH-ის ზემოაღნიშნულ საზღვრებთანაა ადაპტირებული. თუმცა არსებობს მიკროორგანიზმებიც, რომელთაც ნეიტრალურთან საკმაოდ დაშორებულ pH-ზეც შესწევს ზრდის უნარი.

მიკრობიოლოგიურ გარდაქმნებზე დამყარებული, ხარისხობრივად ახალი ტექნოლოგიების შექმნა სხვადასხვა ფერმენტების პროდუცენტი ახალი, ალკალი და აციდოფილური კულტურების სელექციას მოითხოვს. ამ თვალსაზრისით ინტერესს იწვევდა საქართველოს მლაშობებში გავრცელებულ ჰალოფილებს შორის ტუტე გამძლე მიკროსკოპული სოკოების შერჩევა.

კოლექციის შტამებს ვზრდიდით სუფრის მარილის ოპტიმალური კონცენტრაციების შემცველ უნივერსალურ, აგარიზებულ საკვებ არეზე, pH-ის

ფართო დიაპაზონში (2-დან 11-მდე), ოპტიმალურ ტემპერატურაზე კულტივირების პირობებში.

ალკალიფილებად მივიჩნევდით იმ მიკროსკოპული სოკოების კულტურებს, რომელიც იზრდებოდა 5-დან 10-მდე pH-ის დიაპაზონში, ოპტომუმით pH 9.0.

pH-ტოლერანტებს მივაკუთვნეთ მიკრომიცეტების ის კულტურები, რომელსაც pH-ის ფართო დიაპაზონში (2.0-დან 10-მდე) ზრდის უნარი შესწევდა.

ცხრილი 11

კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული pHH-ის მიხედვით ექსტრემოფილური მიკროსკოპული სოკოები

მიკროსკოპული სოკო	გამოყოფის ადგილი	კულტურის სასიცოცხლო pH-ის დიაპაზონი	ოპტიმალური pH	კულტურის დახასიათება
1	**2**	**3**	**4**	**5**
1.Aspergillus sp. A25	ძლიერი დაბლაშების ნიადაგები	5.0-10.0	9,0	ალკალიფილი
2. Aspergillus sp. A26		5.0-10.0	9	ალკალიფილი
3. Aspergillus sp. A27		4.5-8.5	5.0	-
4. Aspergillu sp. A28		4.5-7.5	5.0	-
5. Aspergillus sp. A29		2.5-10.0	4-8.0	pH-ტოლერანტი
6 Aspergillus. sp A30		4.0-7.5	6.0	–
7. Aspergillus sp. A31		2.5-10.0	4-8.0	pH-ტოლერანტი
8.Penicillium sp. A32		4.5-7.5	6.0	-
9. Aspergillus sp. A33		2.5-10.0	4-8.0	pH-ტოლერანტი
10.Penicillium sp. A34		4.5-10.0	9	ალკალიფილი
11. Penicillium sp.A35		4.5-7.5	5.0	-
12. Chaetomium sp.A37		4.5-7.5	5.0	-
13. Chaetomium sp A36		4.5-10.0	9	ალკალიფილი
14. Chaetomium sp A38		5.0-8.0	6	-
15. Chaetomium sp A39		4.5-7.5	6.0	-
16..Fusarium sp A43		5.0-7.5	6.0	-
17. Fusarium sp A44		4.5-7.5	5.5	-
18.Trichoderma sp. A40		4.5-10.0	9	ალკალიფილი

19. Trichoderma sp. A41		5.0-10.0	8.5	ალკალიფილი
20. Trichoderma sp. A42	საშუალო დამლაშების ნიადაგები	4.5-8.0	6.0	-
21. Aspergillus sp. A13		5.0-8.0	6.0	-
22. Aspergillus sp. A14		4.5-7.5	5.0	-
23. Penicillium sp. A15		4.5-8.0	5.5	-
24 Penicillium sp.A16		4.5-7.5	5.5	-
25. Penicillium sp.A17		4.5-7.5	5.5	-
26. Penicillium sp.A18		4.5-8.0	6.0	-
27. Penicillium sp. A19		4.5-7.5	5.5	-
28.Penicillium sp. A2		4.5-7.5	5.5	-
29.Cladosporium sp. A21		4.5-8.0	6.0	-
30. Cladosporium sp.A22		4.5-7.5	6.0	-
31.Mucor sp.A 23		4.5-10.0	9.0	ალკალიფილი
32.Mucor sp. A 24		4.5-10.0	9.0	ალკალიფილი
33Chaetomium sp. A1	სუსტი დამლაშების ნიადაგები	4.5-7.5	5.5	-
34 Aspergillus sp. A2		4.5-10.0	8.5	ალკალიფილი
35. Aspergillus sp. A3		4.5-7.5	5.5	-
36 Aspergillus sp.A4		4.5-7.5	6.0	-
37. Penicillium sp. A5		4.5-7.5	5.5	-
38. Penicillium sp. A 6		4.5-8.0	6.0	-
39 Alesheria sp. A11		5.0-8.0	6.0	-
40. Alesheria sp. A12		4.5-7.5	6	-
41.Fusarium sp. A7		2.5-10.0	4.5-8.0	pH-ტოლერანტი
42.Fusarium sp. A8		2.5-10.0	4.5-8.0	pH-ტოლერანტი
43.Fusarium sp. A9		4.5-7.5	6.0	-
44.Fusariumv sp.A10		4.5-10.0	8.5	ალკალიფილი

№11 ცხრილში წარმოდგენილია კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები pH-ზე დამოკიდებულებით. კოლექციის 44 შტამიდან 15 ჰალოფილი ექსტრემალური აღმოჩნდა pH-ის მიხედვით. მათ შორის ჭარბობდა ალკალიფილები (10 კულტურა). შედარებით დაბალი სიხშირით გვხვდებოდა pH -ტოლერანტები (5 კულტურა). pH-ის მიხედვით ექსტრემოფილების

სიუხვით ხასიათდებოდა ძლიერი დამლაშების ნიადაგები (9 ექსტრემოფილი). საშუალო მარილიანობის ზონიდან შერჩეულია მხოლოდ ორი, ხოლო სუსტი დამლაშებიდან – 4 ექსტრემოფილი.

ლიტერატურიდან ცნობილია *Aspergillus*-ის, *Penicillium*-ის, და *Fusarium*-ის pH გვარების ზოგიერთი მიკროსკოპული სოკოს უნარი გაიზარდოს pH-ის ფართო დიაპაზონში, 2.0-დან 10.0-მდე. ჩვენს ექსპერიმენტშიც გამოვლენილი pH-ტოლერანტები ზემოაღნიშნულ გვარებს ეკუთვნოდა. იდენტიფიცირებულ მიკრომიცეტების ყველა გვარში (*Cladosporium*-ისა და A*llescheria*-ს გარდა) ვხვდებით ალკალიფილების წარმომადგენლებს (ცხრილი 11).

კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებულ pH-ის მიხედვით ექსტრემოფილებს შორის სხვა პარამეტრებით ექსტრემოფილებსაც შევხვდით. მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილებად შეფასდა 5 ალკალიფილური მიკროსკოპული სოკო, რომელიც ერთდროულად სამი პარამერტრით (pH-ით, ტემპერატურით, NaCl-ის მიმართ მდგრადობით) იყო ექსტრემოფილი: *Aspergillus* sp A-26, *Chaetomium* sp A-36, *Trichoderma* sp A-40, *Trichoderma* sp A-41 და *Fusarium* spA-10.

№12 ცხრილში წარმოდგენილია ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული pH-ის მიხედვით ექსტრემალური ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები.

კოლექციის შტამების უმრავლესობა 4.5-7 pH-ის დიაპაზონში იზრდებოდა. ექსპერიმენტის შედეგად გამოვლენილია 12 ექსტრემოფილი (ცხრილი 12). კახეთის ვაკის მლაშობების მსგავსად, ქვემო ქართლის მარილიანი ნიადაგების მიკროფლორაშიც ჭარბობდა ალკალიფილები (11 კულტურა). გამოვლენილია 7 pH-ტოლერანტი, რომელთაც pH-ის ფართო დიაპაზონში შესწევდა ზრდის უნარი.

ცხრილი 12

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული pH-ის მიხედვით ექსტრემალური მიკროსკოპული სოკოები

მიკროსკოპული სოკო	კულტურის სასიცოცხლო pH-ის დიაპაზონი	ოპტიმალური pH	კულტურის დახასიათება
1	2	3	4
1.Aspergillus niger K10-15	2.5-10.0	4.0-7	pH-ტოლერანტი
2 Aspergillus niger K11-12	4.5-7.5	5.5	–

3. Aspergillus niger K 8-16	4.5-7.5	5.5	_
4. Aspergillus. niger K 2-1	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
5.Aspergillus flavus K2-8	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
6.Aspergillus sp K-1	4.5-7.5	5.5	_
7.Aspergillus sp.K-2	2.0-10.0	4.0-7.0	pH-ტოლერანტი
8.Aspergillus sp K-3	4.5-8.0	6.0	_
9.Aspergillus sp K-4	4.5-7.5	5.5	_
10 Aspergillus niger K M6-11	5.0-8.0	5.5	_
11. Aspergillus niger K M11-18	4.5-7.5	5.5	_
12. Aspergillus niger KM2-5	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
13. Aspergillus.niger K M2-2	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
14.Penicillium sp KM-5	4.5-7.5	6.0	_
15.Penicillium sp.KM-6	4.5-7.5	5.5	_
16.Penicillium sp.KM-7	4.5-7.5	5.5	_
17.Penicillium sp.KM-8	2.5-10.0	4.0-7.0	pH-ტოლერანტი
18.Penicillium sp K-5-13	4.5-7.5	5.5	_
19.Penicillium sp.K-9	4.5-7.5	5.5	_
20.Penicilliu sp.K3-3	4.5-7.5	5.5	_
21.Penicillium sp K6-2	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
22.Penicillium. sp KM-19	4.5-7.5	5.5	_
23.Penicillium sp KM3-17	2.5-10.0	5.0-7.0	pH-ტოლერანტი
24.Penicillium sp.KM4-4	4.5-7.5	5.5	_
25.Penicillium sp KM6-3	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
26. Penicillium sp KM6-1	4.5-7.5	5.5	_
27. Penicillium sp KM-10	4.5-7.5	5.5	_
28. Penicillium sp K-111	2.5-10.0	7	pH-ტოლერანტი
29. Penicillium sp KM-12	4.5-7.5	5.5	_
30. Penicilliumv sp. KM-27	4.5-7.5	5.5	_
31. Penicillium sp. KM-28	4.5-7.5	5.5	_
32.Trichoderma sp. K2-3	5.0-10.0	9	ალკალიფილი
33. Trichoderma sp. K2-6	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
34.T. lignrtum sp. K2-7	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
35.Chaetomium sp. KM4-2	4.5-7.5	5.5	_
36. Chaetomium sp.KM-13	4.5-7.5	5.5	ალკალიფილი
37. Chaetomium sp. KM-14	4.5-7.5	5.5	ალკალიფილი
38. Chaetomium sp. KM-15	2.5-10.0	5.0-7.0	pH-ტოლერანტი
39. Chaetomium sp. KM-16	4.5-7.5	5.5	_
40. Chaetomium sp. KM-17	4.5-7.5	5.5	_
41.Fusarium sp. KM3-1	2.5-10.0	5.0-7.0	pH-ტოლერანტი
42. Fusarium sp. KM3-5	4.5-7.5	5.5	_

43. Fusarium sp. KM6-1	5.0-10.0	9	ალკალიფილი
44. Fusarium sp. KM-18	4.5-75	5.5	_
45.Mucor sp. K-19	4.5-7.5	5.5	_
46. Mucor sp. K-20	4.5-7.5	5.5	_
47. Mucor sp. K-21	4.5-7.5	5.5	_
48. Mucor sp. K-22	4.5-7.5	5.5	_
49.Rizopus sp. K-23	4.5-7.5	5.5	_
50. Rizopus sp. K-24	4.0-10.0	9	ალკალიფილი
51. Rizopus sp. K-25	4.5-7.5	3.0	_
52. Rizopus sp. K-26	4.5-7.5	5.5	_

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოს თითქმის ყველა გვარში (*Chaetomium*-ისა და *Mucor*-ის გარდა) გვხვდება ალკალიფილები. pH-ტოლერანტული ფორმები დამახასიათებელი იყო *Aspergillus*-ის, *Penicillium*-ის, *Chaetomium*-ის და *Fusarium*-ის მიკროსკოპული სოკოების კულტურებისთვის (ცხრილი 11).

ექსტრემალური პარამეტრების (pH-ის, ტემპერატურის, NaCl-ის კონცენტრაციების მიმართ მდგრადობის) შეჯერებით ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობების მიკოფლორიდან 4 კულტურა შევაფასეთ როგორც მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილი (სამივე პარამეტრის მიხედვით). *Aspergillus* sp. K2; *Aspergillus* sp KM2 -2 *Fusarium*-sp K 3.- 1 *Trichoderma sp K* 2-6.

IV. საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ბიოტექნოლოგიური შესაძლებლობების შესწავლა

4.1. ამილაზების, ცელულაზების, ქსილანაზებისა და პროტეაზების პროდუცენტების შერჩევა

ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი პრობლემაა სტაბილური ფერმენტების მიღება. ამგვარი ფერმენტების პერსპექტიული პროდუცენტებს, სავარაუდოდ გარემოს ექსტრემალურ პირობებთან ადაპტირებული მიკროორგანიზმებს უნდა წარმოადგენდნენ. განსაკუთრებით საინტერესოა

ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები, რომელთა ბიოპოტენციალი ამჟამად ნაკლებადაა რეალიზებული ბიოტექნოლოგიურ პროცესებში.

სხვადასხვა ფერმენტების (ამილაზების, ცელულაზების, ქსილანაზებისა და პროტეაზების) აქტიური პროდუცენტების შერჩევის მიზნით, საქართველოს მლაშობებიდან გამოყოფილ 96 ჰალოფილური მიკროსკოპულ სოკოს შორის ჩატარდა სკრინინგი NaCl-ის ოპტიმალური კონცენტრაციის შემცველ, განსხვავებული შემადგენლობის საკვებ არეებზე, ოპტიმალურ ტემპერატურაზე სიღრმული კულტივირების პირობებში. ექსპერიმენტის შედეგები წარმოდგენილია №13 და 14 ცხრილებში.

ცხრილი 13

კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული სხვადასხვა ფერმენტების პროდუცენტი ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები

მიკროსკოპული სოკო	ცელუ-ლაზა ერთ/მლ	ამილაზა		ქსილა-ნაზა ერთ/მლ	პროტეაზა, ერთ/მლ
		აერთ/მლ	გლუკო, ერთ/მლ		
1	2	3	4	5	6
1. *Aspergillus* sp. A25					0.7
2. *Aspergillus* sp. A26	0.86	3.2			
3. *Aspergillus* sp. A29			24,5		
4. *Aspergillus* sp. A31		4.2			
5. *Penicillium* sp. A34	1,20				
6. *Penicillium* sp. A35				9,2	
7. *Chaetomium* sp. A36	0,50				
8. *Trichoderma* sp. A40			12,2		
9. *Penicillium* sp. A19				5,7	
10. *Mucor* sp. A23	0,75			3,4	
11. *Mucor* sp. A24		3,7			
12. *Aspergillus* sp. A2			7,0		
13. *Aspergillus* sp. A4	1.0				
14. *Fusarium* sp. A9		5,1			

15. *Fusarium* sp. A10			5,9		
16. *Penicillium* sp. A16		1,5			0,34

ცხრილი 14

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული სხვადასხვა ფერმენტების პროდუცენტი ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები

მიკროსკოპული სოკო	ცელუ-ლაზა ერთ/მლ	ა ამი-ლაზა ერთ/მლ	გლუკო ამილაზა ერთ/მლ	ქსილა-ნაზა ერთ/მლ	პრო-ტეაზა, ერთ/მლ
1. *Aspergillus niger* K 2-1		8,15			
2. *Aspergillus flavus* K2-8		3.5	11,4		
3. *Aspergilluvs* sp. K-1	1,15				
4. *Aspergillus* sp. K 2	0,82				
5.*Aspergillus niger* KM6-11			17,3		
6. *Aspergillus niger* K 2-1			23,9		
7. *Aspergillus niger* K 2-5					0,4
8. *Aspergillus niger* KM2-2		4,1			
9. *Penicillium* sp. K-9				8,5	
10. *Penicillium* sp. K6-2		3,7	7,8	9,8	
11. *Penicillium* sp. KM3-17				11,4	
12. *Penicillium* sp. KM4-4	0,95				0,8
13. *Penicillium* sp. KM6-3				7,7	
14. *Penicillium* sp. KM-10				5,0	
15. *Penicillium* sp. KM-12				5,7	
16. *Penicillium* sp. KM-27			8,0		
17. *Trichoderma* sp. K2-3	0,5				
18. *Trichoderma* sp. K2-6	0,3	4,3	5,75		
19. *Chaetomium* sp. KM4-2					0,6
20. *Chaetomium* sp. KM1-3	0,78				
21. *Fusarium* sp. KM3-1		5,8			

22. *Fusarium* sp. KM6-1	0,3				
23. *Mucor* sp. K-19					1,5
24.*Aspergillus niger* K 2-12		9,0			

ჩატარებული კვლევის საფუძველზე საქართველოს მლაშობების მიკროსკოპული სოკოების კოლექციიდან შერჩეულია ფერმენტების პროდუცენტი 40 კულტურა, მათ შორის 12 ცელულაზას, 22-ამილაზას, 9-ქსილანაზას და 6 პროტეაზას პროდუცენტი. როგორც მოსალოდნელი იყო, ცელულაზას პროდუცენტები ეკუთვნის *Aspergillus*-ის, *Penicillium*-ის და *Chaetomium*-ის გვარებს. ამ გვარების უნარი, აწარმოონ ცელულაზას ბიოსინთეზი სიღრმული კულტივირების პირობებში ლიტერატურული მონაცემებითაც დასტურდება. ქსილანაზას პროდუცენტებს შორის გვხვდება მხოლოდ *Penicillium*-ის გვარის კულტურები.

უნდა აღინიშნოს, რომ ჩვენს მიერ გამოვლენილ პროდუცენტებს შორის აღმოჩნდა ექსტრემოფილური კულტურები. ცელულაზას პროდუცენტი *Aspergillus* sp. K26*, Aspergillus* sp. A-2 და *Chaetomium* sp. A-36, ერთდროულად წარმოადგენენ თერმოფილურ და ალკალიფილურ კულტურებს, *Aspergillus* sp. K26 ექსტრემალური ჰალოფილიც აღმოჩნდა, *Chaetomium* sp. A-36 – ჰალოტოლერანტი, ხოლო *Aspergillus* sp. A-2 - სუსტი ჰალოფილი.

ექსპერიმენტის შედეგად გამოვლენილ α-ამილაზას 5 პროდუცენტიდან ერთი თერმოფილს *Aspergillus* sp. A-26 წარმოადგენდა. 1 – ფსიქროტოლერანტს (*Fusarium* sp. A-10).აღსანიშნავია რომ, α-ამილაზას პროდუცენტი ჰალოფილების უმრავლესობა, ამავდროულად წარმოადგენდა ალკალიფილებს. მხოლოდ კულტურა *Aspergillus* sp. A-31 ხასიათდებოდა pH- ის ფართო დიაპაზონში ზრდის უნარით.

ქსილანაზას აქტიურ პროდუცენტებს შორის *Penicillium*-ის გვარის კულტურები ჭარბობდა, რომელთა შორის არ გვხვდებოდა ექსტრემოფილები pH-ის მიხედვით.

ექსპერიმენტის შედეგად გამოვლენილია პროტეაზას ერთადერთი პროდუცენტი – ჰალოტოლერანტული *Fusarium* sp A10, რომელიც ამავდროულად ალკალიფილი და ფსიქროტოლერანტია, და ამჟღავნებს ამილაზურ აქტივობასაც. ფერმენტების შერჩეული პროდუცენტები არაპათოგენურები და არატოქსიკურებია.

უნდა აღინიშნოს, რომ გამოვლენილ პროდუცენტებს შორის აღმოჩნდა ისეთი კულტურები, რომლებიც ერთდროულად რამდენიმე ფერმენტის პროდუცირების უნარით ხასიათდებოდა. მეზოფილური კულტურა *Penicillium* sp K 6-2 სამი ფერმენტის - αამილაზას, გლუკოამილაზას და ქსილანაზას სინთეზის უნარს ამჟღავნებდა,KM ხოლო *Trichoderma*.sp K 2-6 -ს გააჩნია ცელულაზას, α-ამილაზას და გლუკოამილაზას სინთეზის უნარი. ეს უკანასკნელი ამავე დროს, შეფასებულია, როგორც მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილი.

4.2.ორგანული ტოქსიკანტების ასიმილაციის უნარის მქონე ჰალოფილური კულტურები

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ტოქსიკური ნივთიერებებით დაბინძურებული ნიადაგები, განსაკუთრებით ქიმიური საწარმოების მიმდებარე ტერიტორიები, ხასიათდება მაღალი მარილიანობით. აქედან გამომდინარე, ინტერსს იწვევდა ჰალოფილურ კულტურებს შორის ტოქსიკური ნივთიერებების დეგრადაციის უნარის მქონე შტამების გამოვლენა. ორგანული ტოქსიკანტებიდან შევარჩიეთ ქიმიური წარმოების ნარჩენი კანცეროგენული ნივთიერებები, კერძოდ ფენოლი, ბენზოლი და ბენზპირენი.

ჰალოფილურ კულტურებს ვზრდიდით თხიერ საკვებ არეებზე, სადაც ნახშირბადის ერთადერთ წყაროს წარმოადგენდა ფენოლი, ბენზოლი და ბენზპირენი. ჰალოფილური კულტურების დეტოქსიკაციის უნარს ვაფასებდით კულტურალურ სითხეში ნარჩენი ტოქსიკანტების რაოდენობის მიხედვით. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია №15 ცხრილში.

ცხრილი 15

ორგანული ტოქსიკანტების ასიმილაცია ჰალოფილური კულტურების მიერ

№	კულტურა	ნარჩენი სუბსტრატი,%		
		ფენოლი	ბენზოლი	ბენზპირენი
1.	*Aspergillus* sp. K-2	5,5	6,7	56,7
2.	*Penicillium* sp. A 32	57,8	45,7	34,8
3	*Fusarium* sp. A43	78,9	33,7	59.7
4	*Trichoderma* sp. K2-3	2,7	6,7	35,7

5	*Mucor* sp. K19	5,4	79,6	7,9
6	*Mucor* sp. A23	67,9	67,9	77,3
7	*Aspergillus* sp. KM2-2	7,8	57,7	60,9
8	*Trichoderma* sp. A 40	2,7	28,7	5,7

როგორც ცხრილიდან ჩანს, ჰალოფილური კოლექციის რამდენიმე კულტურას აღმოაჩნდა ორანული ტოქსიკანტების დეგრადაციის მაღალი უნარი. კერძოდ, ფენოლის ასიმილაციის მაღალი ხარისხით გამოირჩევა ჰალოფილური სოკოების 4 კულტურა - *Aspergillus* sp. K2, *Trichoderma* sp. K2-3, *Mucor* sp. K19, *Trichoderma* sp. A 40 ბენზპირენის დეგრადაციით ორი - *Mucor* sp. K19, *Trichoderma* sp. A 40, და ბენზოლის – 2, *Aspergillus* sp. K-2 , *Trichoderma* sp. K2-3

ამრიგად, ჩატარებული სამუშაოს საფუძველზე შექმნილია ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების კოლექცია, შერჩეულია მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილური კულტურები, ამ კულტურებს შორის გამოვლენილია ჰიდროლიზური ფერმენტების აქტიური პროდუცენტები. მათ მიერ წარმოქმნილი სტაბილური ფერმენტები კი, წარმატებით შეიძლება იქნენ გამოყენებული სხვადასხვა ბიოტექნოლოგიურ პროცესებში.

დასკვნები:

1. საქართველოს ორი განსხვავებული მლაშობიდან – ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკეების მარილიანი ნიადაგებიდან გამოყოფილია 96 განსხვავებული სახეობის მიკროსკოპული სოკო, მათ შორის 44 კახეთის მარილიანი ნიადაგებიდან, 52- ქვემო ქართლის მარილიანი ნიადაგებიდან და ტბებიდან. იდენტიფიცირებულია 9 გვარი: *Aspergillus, Penicillium, Chaetomium, Fusarium, Allescheria, Trichoderma, Cladosporium, Mucor* და *Rhizopus.*
2. განსაზღვრულია საქართველოს მარილიან ნიადაგებსა და ტბებში გავრცელბული მიკროსკოპული სოკოების ცალკეული გვარის შეხვედრის სიხშირე; გამოვლენილია ამ რეგიონისათვის დამახასიათებელი დომინანტი გვარები და დადგენილია მათი გავრცელების კანონზომიერება, განპირობებული გარემოს ეკო-გეოგრაფიული ფაქტორებით. ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკეების მარილიანი ნიადაგებისა და ტბების პირველი რანგის დომინანტს წარმოადგენს Ascomicetis კლასის გვარები *Aspergillus* და *Penicillium.*

3. შესწავლილია კოლექციის კულტურების ექსტრემოფილობის ხარისხი; დადგენილია მიკროსკოპული სოკოების სასიცოცხლო ტემპერატურული და pH დიაპაზონები; ცალკეული კულტურისათვის განსაზღვრულია კულტივირების ოპტიმალური ტემპერატურა და pH. გამოვლენილია 18 ექსტრემოფილი კულტურა ტემპერატურის და 33 _ pH- ის მიხედვით.
4. შესწავლილია ცალკეული ჰალოფილური კულტურის მოთხოვნილება და მდგრადობა NaCl-ის სხვადასხვა კონცენტრაციების მიმართ. ნაჩვენებია, რომ ქვემო ქართლისა და კახეთის ვაკეების მლაშობები ჰალოფილების „საბადოს“ წარმოადგენს: გამოყოფილი 96 მიკროსკოპული სოკოდან, მეტ-ნაკლები ხარისხით ყველა ჰალოფილია: 39 – ჰალოტოლერანტი, 11 – ექსტრემალური, 28 – ზომიერი და 18 – სუსტი ჰალოფილი.
5. ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების კოლექციაში შერჩეულია მაღალი ხარისხის 9 ექსტრემოფილი (ექსტრემოფილი სამივე პარამეტრის მიხედვით)
6. ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების კოლექციაში შერჩეულია ცელულაზის, ამილაზის, ქსილანაზის და პროტეაზის ახალი, აქტიური პროდუცენტები. ფერმენტების პროდუცენტებს შორის გამოვლენილია 3 მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილი.
7. შერჩეულია ორი ჰალოფილი, რომელიც ერთდროულად სამი ფერმენტის სინთეზის უნარს ამჟღავნებს _ *Penicillium* sp. KM 6-2 და *Trichoderma* sp. K2-6 ნაჩვენებია ჰალოფილური კულტურებით ტოქსიური ნაერთების ბიოდეგრადაციის შესაძლებლობა. შერჩეულია 8 დესტრუქტორი შტამი.

გამოყენებული ლიტერატურა:

1 **საბაშვილი მ.** საქართველოს სსრ ნიადაგები. გამომცემლობა “მეცნიერება”, 1965.

2 **Берестецкий О.А.** Об изменении почвенной микрофлоры плодовыми растениями в вязи с токсичностью садовых почвю – В кн. Материалы первого межвуз, совещ. по агрофитоценологии. Казань, 1969.

3 **Билай В.И., Э.З. Коваль.** Аспергиллы. Киев.Наукова думка 1988.

4 **Гусев М.В. Минева Л.А.** Экстремальные галофилы в. кн. Микробиология м. АСАДЕМИЯ 2003б с.417-420

5 **Дудка Н.А. и др.** Методы экспериментальной микологии. 1982. ст. 439.

6 **Звягинцев Д.Г. и др.** Методы почвенной микробиологии и биохимии из. Моск. Унив. 1980. ст.12.

7 **Звягинцева И.С., Тарасов А.Л.,** Экстремально галофильные бактерии из засоленных почв, ж. Микробиология, 1987, т.56, вып.5, с.839-844.

8 **Звягинцева Н.А. Кострикина А.Н., Беляев С.С.,** Обнаружение галофильных в верхнедевонских нефтяных месторождениях татарстана, ж. Микробиология, 1998, т.7, с.827-837.

9 **Куличевская И.С., Звягинцева И.С., Тарасов А.Л., Плакунов В.К.** Екстремально галофильные архибактерии из некоторых засоленных екотопов ж. Микробиология, т.61, 1992 с.вып.1, ы 71-75.

10 **Литвинов.** Определитель микроскопических почвенных грибов, Ленинград. 1967.

11 **Пидопличко Н.М., Милько А.А.** Атлас мукоральных грибов., Киев, 1971.

12 **Рухлядева А.П., Горячева М.Г.** - Определение амилолитической активности ферментов. Ферментная и спиртовая промышленность, 1960, ст 1-9.

13 **Спесивцева И.А.** Методы определения токсичности кормов \\ Методы исследования в ветеринарской микологии.-М. Изд.Колос,1971. с.224-235.

14 **Трошин Д.В., Д.В. Лысак, С.А. Лопатин, В.П. Варламов, И.Ф. Рябченко, А. И. Степанов.** Внеклеточные ферменты экстремально галофильных бактерий, ж. Биотехнология, 1993, т.4, с.6-9.

15 **Фомин Г.С., Фомин, А.Г**. (2001) Почва. Контроль качества и экологической безопасности по международным стандартам. Москва, ВНИИ стандарт.

16 **Abdel-Hafez, S.I., A.H. Maubasher, and H.M. Abdel-Fattah.** 1978. Cellulose decomposing fungi of salt marshes in Egypt. Folia Microbiol. (Praha) 23(1):37-44.

17 **Abdel-Hafez, S.I., M.A. Zidan, MMK Bagy, and M.A. Abdel-Sater.** 1989. Distribution oftwo halophilic fungi in the Egyptian soils and glycerol accumulation. Cryp.Mycol. 10 (2) 125-134.Acevedo-Ríos, C. 1987.

18 **Abdel-Hafez, S.I., S.M. Mohawed, and A. H. M. El-Said.** 1989. Seasonal fluctuations of soil fungi of Wadi Qena at eastern desert of Egypt. Acta Mycol. 25, 113-125.

19 **Aguiiar A.** 1996 Extremophile Microbiol. research in the European Union :from fundamental aspects to industrial expectations. FEMS Rev. 18:89-92

20 **Amon J.** 1978 Thraustochytrids and Labyrinthulids of terrestrial, aquatic and

hypersalineenvironments of the Great Salt Lake, USA. Mycologia 70: 1299-1301.

21 **Andreishcheva, E. N., E. P. Isakova, N. N. Sidorov, N. B. Abramova, N. A. Ushakova, G.L. Shaposhnikov, M. I. M. Soares, and R. A. Zvyagilskaya.** 1999. Adaptation toSalt Stress in a Salt-Tolerant Strain of the Yeast *Yarrowia lipolytica* Biochemistry 64(9):1061-1070.

22 **Anson M.Z.** The estimation of pepsin, trypsin, papain and cothepsin with hemoglobin//Gen. Physiol. -1938. –vol. 22, #1. –p.79-83.

23 **Antón, J., A. Oren, S. Benlloch, F. Rodríguez-Valera, R. Amann, and R. Roselló-Mora.** 2002. *Salinibacter rubber* gen. nov., sp. nov., a novel, extremely halophilicmember of the bacteria from solar saltern crystallizer ponds. Int. J. SystEvol.Microbiol. 52: 485-491.

24 **Baas-Becking Y.G.** Historical notes on salt and salt manufacture, Sci. Month, 1931, 32 p434-446

25 **Bayley, R. M., and R.A. Morton.** 1978. Recent developments in the molecular biology ofextremely halophilic bacteria. Crit. Rev. Microbiol. 6: 151-205.

26 **Beever, R.E., and E.P. Laracy.** 1986. Osmotic adjustment in the filamentous fungus*Aspergillus nidulans*. J. Bacteriol. 168: 1358-1365.

27 **Blomberg A., L. Adler**, *Adv. Microb. Physiol.* **1992**, *33*, 145.

28 **Bois, G., A. Bertrand , Y. Piche, M. Fung, and D.P. Khasa.** 2005. Growth, compatiblesolute and salt accumulation of five mycorrhizal fungal species grown over arange of NaCl concentrations. Mycorrhiza 28;:1-11

29 **Brisou J., Lourtois D., Denis F.** Microbiological study of a hyperaline lake in french Somaliland, 1974, Appl. Microb., v., 27, p.819-822

30 **Brisou, J., D. Courtois, and F. Denis.** 1974. Microbiological study of a hypersaline lake in French Somaliland. Appl. Microbiol. 27:819-822

31 **Brown, A.D.** 1990. Microbial water stress physiology: principles and perspectives.Chichester:

32 **Buchalo, A.S., E. Nevo, S.P Wasser, A. Oren, and H-P. Molitoris** 1998. Fungal life inextremely hypersaline water of the Dead Sea: First records. Proceedings of theRoyal Society of London 265: 1461-1465.

33 **Butinar, L., P. Zalar, J.C. Frisvad, and N. Gunde-Cimerman.** 2005a. The genus *Eurotium*- members of indigenous fungal community in hypersaline waters of salterns.FEMS Microbiol. Ecol. 51(2):155-166.

34 **Butinar, L., S. Santos, I. Spencer-Martins, A. Oren, and N. Gunde-Cimerman.**

2005b.Yeast diversity in hypersaline habitats. FEMS Microbiol Lett. 244(2):229-234

35 **Carvalho, L.M., P.M. Correia, and M.A. Martins-Loucao.** 2004. Arbuscular mycorrhizalungal propagules in a salt marsh. Mycorrhiza 14:165–170

36 **Cayol, J.L., S. Ducerf, B.K. Patel, J.L. García, P. Thomas, and B. Ollivier.** 2000.*Thermohalobacter barrensis* gen. nov., a thermophilic, strictly halophilic bacterium from a solar saltern. Int J. Syst. Evol. Microbiol. 50(2): 559-564.

37 **Christensen, M.** 1989. A view of fungal ecology. Mycologia 81: 1-19

38 **Cronin, A.E., and F.J. Post.** 1977. Reports of a dematiaceous hyphomycete from greatsalt lake, Utah. Mycologia 69: 846-847.

39 **Dahlguist A. J. Biochem.** 1961. V. 80. P.547.

40 **de Hoog, G. S., and A. H. G. Gerrits van den Ende.** 1992. Nutritional-pattern and ecophysiology of *Hortaea werneckii*, agent of human tinea nigra. Antonie van Leeuwenhoek 62:321-329.

41 **de Hoog, G.S., H. Beguin, and W.H. Batenburg-van de Vegte.** 1997. *Phaeothecatriangularis*, a new meristematic black yeast from a humidifier. Antonie VanLeeuwenhoek. 71(3):289-95.

42 **Díaz Muñoz Greetchen M.** - Fungal Diversity Present at a Hypersaline Environment in Cabo Rojo, Puerto Rico Determined by haracterization of Isolates and Analysis of Environmental - 2006

43 **Dix N. and Webster J.** 1995. Fungal ecology. Chapman & Hall ,London ,United Kingdom .

44 **Dundas J., Srivasan V.A.,** Chemistry defined medium for Halobacterium Salinarium Strain I., Can J. Microbiol., 1963 v., 9 p. 619-624.

45 **Fendrich, C.** 1988. Halovibrio variabilis gen. nov. sp. nov., Pseudomonas halophila sp. nov. and a new halophilic aerobic coccoid eubacterium from Great Salt Lake, Utah. Syst. Appl. Microbiol. 11:36-43.

46 **Fillinger, S., M. Chaveroche, P. van Dijck, R. de Vries, G. Ruijter, J. Thevelin, and C. d′Enfert.** 2001. Trehalose is required for the acquisition of tolerance to a varietystresses in the filamentous fungus *Aspergillus nidulans*. Microbiol. 147: 1851-1862.

47 **Frazman M.C. Vreeland R.,** Utilization of protein profiles for the characterization of halophilic bacteria, Microbiol., 1995, v.,31 p.158-162.

48 **García, M.J., G. Ríos, R. Ali, J.M. Belles, and R. Serrano.**1997.Comparative physiologyof salt tolerance in *Candida tropicalis* and *Saccharomyces cerevisiae*. Microbiol.143: 1125-1131.

49 **Ghose T.K.** Measurement of cellulase activities Pure Appl. Chem., 1987, 59, p.257-268.

50 **Gibbons W.,** Isolation, growth and requirements of halophilic bacteria . mathods in Microbiology, v., 38, Academic press, # V p. 169-182.

51 **Grishkan, I., E. Nevo, and S.P. Wasser.** 2003. Micromycete diversity in the hypersaline Dead Sea coastal area (Israel). Mycolog. Prog. 2, 19-28.

52 **Gunde-Cimerman N., P. Zalar, G. S. de Hoog, A. Plemenitaš, M. F. Roberts,** Saline Systems 2005, 1, 5. doi:10.1186/1746.

53 **Gunde-Cimerman, N., P. Zalar, G.S. de Hoog and A. Plemenitas.** 2000. Hypersaline waters in saltern–natural ecological niches for halophilic black yeast. FEMSMicrobiol. Ecol. 32: 235-240.

54 **Henis, Y., and J. Eren.** 1963. Preliminary studies on the microflora of a highly saline soil. Can. J. Microbiol. 9:902-904.

55 **Hildebrant, U., K. Janetta, F. Ouziad, B. Renne, K. Nawrath, and H. Bothe.** 2001.Arbuscular micorrhizal colonization of halophytes in central European salt marshes. Micorrhiza 10: 175-183.

56 **Holker, U., J. Bend, R. Pracht, L. Tetsch, T. Muller, M. Hofer, and G.S de Hoog.** 2004. *Hortaea acidophila*, a new acid-tolerant black yeast from lignite. Antonie Van Leeuwenhoek. 86(4):287-94.

57 **Huval, J. H., R. Latta, R. Wallace, D. J. Kushner, and R. H. Vreeland.** 1995. Description of two new species of Halomonas: Halomonas israelensis sp. nov. and Halomonas canadensis sp. nov. Can. J. Microbiol. 41:1124-1131

58 **Ingerm M**., Microorganizms resisting high concentration of sugar or salt, Symp. Soc. gen. Microbiol.,1957, v7 p. 90-133

59 **Kendrick, B., M. J. Risk, J. Michaelides, and K. Bergman.** 1982. Amphibious microborers: bioeroding fungi isolated from live corals. Bull. Mar. Sci. 32: 862–867.

60 **Kessel M., Cohen Y., Walsby E., Hypersaline ecosystems, B.Heidelberg,** Tokyo, Springer 1985, p.267-287

61 **Khire, J. M.** 1994. Production of moderately halophilic amylase by newly isolated Micrococcus sp. 4 from a salt pan. Lett. Appl. Microbiol. 19:210-212.

62 **Kis-Papo T., A. Oren , S.P. Wasser, and E Nevo.** 2003a. Survival of filamentous fungi in hypersaline Dead Sea water. Microb. Ecol. 45(2):183-190.

63 **Kis-Papo, T., I. Grishkan, A. Oren, S.P. Wasser, and E. Nevo.** 2001. Spatiotemporal diversity of filamentous fungi in the hypersaline Dead Sea. Mycol. Res. 105, 749-756.

64 **Kobayashi, T., M. Kamekura, W. Kanlayakrit, and H. Onishi.** 1986. Production,

purification, and characterization of an amylase from the moderate halophile, *Micrococcus varians* subspecies *halophilus*. Microbios **46:**165-177.

65 **Kohlmeyer, J., and B. Volkmann-Kohlmeyer.** 1988. *Halographis* (Opegraphales), a new endolithic lichenoid from corals and snails.Can. J. Bot. 66: 1138–1141.

66 **Kohlmeyer, J., and B. Volkmann-Kohlmeyer.** 1989. A new *Lulworthia* (Ascomycotina)from corals. Mycologia 81: 289–292.

67 **Kohlmeyer, J., and B. Volkmann-Kohlmeyer.** 1992. Two Ascomycotina from coral reefs in the Caribbean and Australia. Crypt.Bot. 2: 367–374.

68 **Kohlmeyer, J., and E. Kohlmeyer.** 1979. Marine mycology: The higher fungi. New York;Academic Press.

69 **Kushner D.I.,** Halophilic Bacteria 1968, Adv. Appl. Microbiol., v.,10, p. 73-99.

70 **Kushner D.J.** The Bacteria Ed.C.R. 1985.132 #4 p.171-213.

71 **Landwehr M., U. Hildebrandt, P. Wilde, K. Nawrath, T. Toth, B. Biro, and H. Bothe.** 2002. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus geosporum* in European saline,sodic and gypsum soils. Mycorrhiza.12(4):199-211.

72 **Lanyi, J. K.** 1974. Salt-dependent properties of proteins from extremely halophilic bacteria. Bacteriol. Rev. 38: 272-290.

73 **Larsen H** The family Halobacteriacecae, J. The prokariotes/ Starr M.P. Stolor H., Truper H.G. Balous Shegel H.G. Berlin-Heidelberg-New York: Springer Verlag 1981 v 1 p 985-994

74 **Larsen H.** Biochemical aspects of eqtreme halophilism, Adv Microb Physiol .1983, v4, p 297-342

75 **Larsen H.** Biochemical aspects of extreme halopilism, Adv, Microbiol. Phiziolog, 1967, v,1 p 97-132

76 **Larsen H.** Hallophilism, The bactweria Academic press, New york and London 1962, v4 p.297-342

77 **Larsen H.** the Halobacterias confusion to biology, 1973, Anton van Leeuevenhoek v, 39 p.383-396

78 **Le Fevre, E., and L. A. Round.** 1919. A preliminary report upon some halophilic bacteria. J. Bacteriol. **4:**177-182.

79 **Lizama, C., M. Monteoliva-Sánchez , A. Suárez-García , R. Roselló-Mora , M. Aguilera,V. Campos, and A. Ramos-Cormenzana.** 2002. *Halorubrum tebenquichense* sp.nov., a novel halophilic archaeon isolated from the Atacama Saltern, Chile. Int. J.Syst. Evol. Microbiol. 52:149-155.

80 **Longworthy T.A.** Lipids of archaebacteria , J. The Bacteria, v., VIII, Orlando, Acad.

press., 1985, p. 459-497.

81 **Longworthy T.A.Pond J.L.,** - Archaebacterial ather lipids, System Appl. Microbiol., 1986, v.,7#2-3, P.. 253-257.

82 **Malloch. Dovid. Moulds,** Their Isolation, Cultivation and Identification. University of Toronto Press. Toronto Buffalo London. 1981.

83 **McGinnis, M.R., W.A. Schell, and J. Carson,** 1985. *Phaeoannellomyces* and *Phaeococcomycetaceae,* new dematiaceous blastomycete taxa. J. Med. Vet. Mycol 23: 179-188.

84 **McMeekin, T. A., P. D. Nichols, S. D. Nichols, A. Juhasz, and P. D. Franzmann.** 1993. Biology and biotechnological potential of halotolerant bacteria from Antarctic saline lakes. Experientia 49:1042-1046.

85 **Medicis E. Lilibeste J.F.,** Vass-Marengo J. Ybid., 1982, v.,708, p.57-67

86 **Miller D.M., Yopp J.H., Tindall D.,** Intracellular ions and Woter in response to enviromental changes in an obligately halophilic bacteria, 1976, Plant Physoel.,v. 57, p.96.

87 **Montalvo-Rodríguez, R., J. López-Garriga, R.H. Vreeland, A. Oren, A. Ventosa, and M.Kamekura.** 2000. *Haloterrigena thermotolerans* sp. nov., a halophilic archaeonfrom Puerto Rico. Int. J. Syst. Bacteriol. 50: 1065-1071

88 **Montalvo-Rodríguez, R., R.H. Vreeland, A. Oren, M. Kessel, C. Betancourt, and J.López-Garriga,** 1998. *Halogeometricum borinquense* gen. nov., sp. nov., a novelhalophilic archaeon from Puerto Rico. Int. J. Syst. Bact. 48: 1305-1312.

89 **Montero J.L. Ventosa K.,** The effect of temperature on the growth and lipid composition of the extremely halophilic coccus, Antoniv van Lewenhoek, 47, p.25-40.

90 **Mouchacca J.** 1997. Thermophilic fungi :biodiversity and taxonomic status

91 **Mullakhanbhai, M. F., and H. Larsen.** 1975. *Halobacterium volcanii* spec. nov., a Dead Sea halobacterium with a moderate salt requirement. Arch. Microbiol. **104:**207-214

92 **Nelson N.A.** Protometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. – J. Biol. chem. 1944. 153-157.

93 **Nicolaus, B., F. Marsiglia, E. Esposito, L. Lama, A. Trincone, G. di Prisco, A. Gambacorta, M. J. Valderrama, and W. D. Grant.** 1992. Isolation of extremely halotolerant cocci from Antarctica. FEMS Microbiol. Lett. **99:**145-150.

94 **Nieves-Rivera, A.** 2005. Coastal Mycology of Puerto Rico: A Survey and BiologicalAspects of Marine, Estuarine, and Mangrove Fungi. Doctoral dissertation.University of Puerto Rico, Mayagüez Campus.

95 **Nishimura, K., and M. Miyaji.** 1984. *Hortae,* a new genus to accommodate *Cladosporium werneckii*. Jpn. J. Med Mycol. 25: 139-146.

96 **Norton C.F., Grand N.D**. m Archeal halophiles from two British salt mines, J., Gen Microbiol.,v.139,p.1077-1081.

97 **Ohga M., Shimizu K., Morita Y.**//Agric.Biol.Chem. 1966.V.30.P.967.

98 **Onishi H., Kamekura M.,** Micrococcus halobus sp. n. 1972, IntSyst., Bacteriol.,v. 22 p. 193-210.

99 **Onishi, H., H. Fuchi, K. Konomi, O. Hidaka, and M. Kamekura.** 1980. Isolation and distribution of a variety of halophilic bacteria and their classification by salt-response. Agric. Biol. Chem. 44:1253-1258.

100 **Oren A.** 1999. Bioenergetic Aspects of Holophilism. Microbiology and Molecullar Biology Reviews.V.63, No.2, P. 334-348.

101 **Oren, A.** 1986. Intracellular salt concentrations of the anaerobic halophilic eubacteria*Haloanaerobium praevalens* and *Halobacterioides halobius*. Can. J. Microbiol.32: 4-9.

102 **Oren, A.** 1988. The microbial ecology of the Dead Sea. Adv. Microb. Ecol. 10:193-229.

103 **Oren, A.** 1990. Estimation of the contribution of halobacteria to the bacterial biomass and activity in a solar saltern by the use of bile salts. FEMS Microbiol. Ecol. 73:41-48.

104 **Oren, A.** 1990. The use of protein synthesis inhibitors in the estimation of the contribution of halophilic archaebacteria to bacterial activity in hypersaline environments. FEMS Microbiol. Ecol. **73:**187-192.

105 **Oren, A.** 1999. Bionergetics aspects of Halophilism. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 63 (2):334-348.

106 **Oren, A., P. Gurevich, R.T. Gemmell, and A. Teske.** 1995. *Halobaculum gomorrense*

107 **Pedros-Alió, C., J.I. Calderón-Paz, M.H. MacLean, G. Medina, C. Marrase, J.M. Gasoland N. Guixa-Boixereu.** 2000. The microbial food web along salinity gradients.FEMS Microbiol Ecol. 32(2):143-155.

108 **Pérez, M. E., M. J. Montes, V. Béjar, E. Quesada, and C. Ruiz.** 1997. Efecto del polisacárido V2-7 de Halomonas eurihalina cepa F2-7 sobre linfocitos humanos, abstr. 222. In Abstracts del XVI Congreso de la Sociedad Española de Microbiologia.

109 **Post, J. F.** 1977. The microbial ecology of the Great Salt Lake. Microb. Ecol. 3:143-165.

110 **Quesada, E., A. Ventosa, F. Rodriguez-Valera, and A. Ramos-Cormenzana.** 1982. Types and properties of some bacteria isolated from hypersaline soils. J. Appl.

Microbiol. 53:155-161.

111 **Quesada, E., A. Ventosa, F. Rodriguez-Valera, L. Megias, and A. Ramos-Cormenzana.** 1983. Numerical taxonomy of moderately halophilic gram-negative bacteria from hypersaline soils. J. Gen. Microbiol. 129:2649-2657.

112 **Quesada, E., V. Bejar, M. J. Valderrama, and A. Ramos-Cormenzana.** 1987. Growth characteristics and salt requirement of Deleya halophila in a defined medium. Curr. Microbiol. 16:21-25.

113 **Razak A.A., G. Bachmann, Th. M. Ali and R. Farrag** 1999. Activities of microflora insoils of upper and lower Egypt. African J. Mycol. Biotech. Vol. 7 (1) 1-19.

114 **Rengpipat S, Lowe S. and Zeikus J.** 1988. Effect of Extrem Salt Concentration on the Physiology and Biochemistry of Halobacterioides acetoethilicus. J. of Bacteriology., P.3-65-3071.

115 **Rodriguez-Valera F.,Ruit-Beraguero F.,** Appl., Environ Microbiol. 1979, v.,38 p. 164-165.

116 **Rothschilid L.J., Giver L.J.,White M.R .& Mancinelli ,R .L.**1994.Metabolic activity of microorganisms in evaporates .Jurnal of fycology 30, 431-438

117 **Ruiz-Suárez, J.** 2004. Arenicolus filamentous fungi in Mayagüez Bay shoreline, WesternPuerto Rico. Master Thesis. University of Puerto Rico, Mayagüez Campus.

118 **Sanches–Porro C., Mellado E., Bertoldo C .,Antranikian G., Ventosa A.** - Screening and characterization of the protease CP1 produced the moderately halofilic bacterium Pseudoalteromonas sp strain CP76\\Exstremophiles .2003 .7.P.221-228.

119 **Scot W.,** Waterrelation of food spoilage microorganisms, 1957, Adv.Food Res., v. 57p83-127

120 **Simon, R. D., A. Abeliovich, and S. Belkin.** 1994. A novel terrestrial halophilic environment: the phylloplane of *Atriplex halinus*, a salt-excreting plant. FEMS Microbiol. Ecol. **14:**99-110.

121 **Somogyi M**. Determination of reducing sugars. – J. Biol. Chem., 1952, 195, 199-280.

122 **Spring, S., W. Ludwig, M. C. Marquez, A. Ventosa, and K.-H. Schleifer.** 1996. Halobacillus gen nov., with descriptions of Halobacillus litoralis sp. nov. and Halobacillus trueperi sp. nov., and transfer of Sporosarcina halophila to Halobacillus halophilus comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 46:492-496.

123 **Stepanov V Rudenskaya G .N., Revina I .P .et al** .\\Biochem.J .-1992. V.285.P.281-286

124 **Stepanov V., Rudenskaya G .N., Revina I .P .et al** .\\Biochem.J .-1992. V.285.P.281-286

125 **Stetter K,O.**1999 .Extremophiles and their adaptation tu hot environments .FEBS Lett . 452:22-25

126 **Stoeckenius N., Rowen R.A.** - Microbial study of Halobacterum halobum and its lysis in media of low salt concentration, J.,Cell.Biol., 1967, v.,34, p.365.

127 **Takashima t., at all -** Evidensethat the longlifetime photointermediate of s-rhodopsin is a receptor for nrgative phototaxis Halobacterium Halobum ., Biochem. and Biophys. Res., 1985, v.127, p.99-105.

128 **Torreblanca M., Rodriuez-Valera T., Ventosa A.,** Syst. and Appl. microbiol., 1986 p.89-99.

129 **Torzilli, A.P.** 1982. Polysaccharide production and cell wall degradation by several salt marsh fungi. Mycologia 74: 297-302.

130 **Torzilli, A.P.** 1997. Tolerance to high temperature and salt stress by a salt marsh isolate of *Aureobasidium pullulans*. Mycologia 89 (5): 786-792.

131 **Torzilli, A.P., and J.R. Managbanag.** 2002. An analysis of trehalose, glycerol, andmannitol accumulation during heat and salt stress in a salt marsh isolate of *Aureobasidium pullulans*. Mycologia 94 (3): 384-391.

132 **Trupper H.,Galinski., Experimentia,** 1986, v.,42, p.,1182-1187 19 Borowitzka, L.J., and A.D. Brown. 1974. Biochemistry and physiology of Protozoa.Arch. Microbiol.

133 **Van Qua, D., U. Simidu, and N. Taga.** 1981. Purification and some properties of halophilic protease produced by a moderately halophilic marine *Pseudomonas* sp. Can. J. Microbiol. **27:**505-510

134 **Ventosa A. Nieto J.J.,Oren A. -** Biology of Moderately Halophilic Aerobic Bacteria \\MMBR.1998.62 .(2).P.504-544) Demirjian D.C., Moris-varas F., Cassidy C.S. Enzymes from extremophiles \\Cur. Op. Chem. Biol . Vol 5,Issue 2,1 April 2001 ,P.144-151

135 **Ventosa A., Montero C.** Abstr. Trade Exh.XIV Intern. Congr. Microbiol., Manchester, 1986, p.,106.

136 **Ventosa, A., M. C. Gutierrez, M. T. Garcia, and F. Ruiz-Berraquero.** 1989. Classification of "*Chromobacterium marismortui*" in a new genus, *Chromohalobacter* gen. nov., as *Chromohalobacter marismortui* comb. nov., nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol. **39:**382-386.

137 **Vilhelmsson, O., H. Hafsteinsson, and J. K. Kristjánsson.** 1996. Isolation and characterization of moderately halophilic bacteria from fully cured salted cod (bachalao). J. Appl. Bacteriol. 81:95-103.

138 **Villar, M., A. P. de Ruiz Holgado, J. J. Sanchez, R. E. Trucco, and G. Oliver.** 1985.

Isolation and characterization of Pediococcus halophilus from salted anchovies (Engraulis anchoita). Appl. Environ. Microbiol. 49:664-666

139 **Vishniac H. S., S. Onofri,** *Antonie Van Leeuwenhoek* **2003**, *83*,

140 **Voorhorst W .G., Eggen R .I ., Geerling A.C ., Platteeuw C N .,Siezen R.J., de Vos W .M**Isolation and characterization of the hyper thermostable serin protease , pyrolysine and its gen from hypethermophilic archaeon Pyrococcus furiosus \\J .Biol .Cem .1996 .271(34) ,P.2042-2044

141 **Vreeland, R. H., and E. L. Martin.** 1980. Growth characteristics, effects of temperature, and ion specificity of the halotolerant bacterium Halomonas elongata. Can. J. Microbiol. 26:746-752.

142 **Vreeland, R. H., and J. H. Huval.** 1991. Phenotypic characterization of halophilic bacteria from ground water sources in the United States, p. 53-60. In F. Rodriguez-Valera (ed.), General and applied aspects of halophilic microorganisms. Plenum Press, New York, N.Y.

143 **Vreeland, R. H., R. Anderson, and R. G. E. Murray.** 1984. Cell wall and phospholipid composition and their contribution to the salt tolerance of Halomonas elongata. J. Bacteriol. 160:879-883

144 **Waksman S.A.** Soil fungi and their activities. – Soil., Sci 1916, 2, #1, p. 103-105.

145 **Wang. D., Tang.Q.,** Recent advances in Microbial Ecology, Japan Scientific sovietes, Press tokyo, 1989, p.68.

146 **Warcup S.H.** The soil-plate method for isolation of fungi from soil-Nature, 1950, 166, #4502, p. 117.

147 **Wheeler K.A, and A.D.** Hocking. 1993. Interactions among xerophilic fungi associatedwith dried salted fish. J. Appl. Bacteriol. 74(2):164-169.

148 **Yancey, P.H., M.E. Clark, S.C. Hand, R.D. Bowlus, and G.N. Somero**. 1982. Living withwater stress: evolution of osmolyte systems. Science 217, 1214-1222.

149 **Zalar P., G. S. de Hoog, H. J. Schroers, J. M. Frank, N. Gunde-Cimerman, L. Butinar, S. Sonjak, M. Turk, V. Uršiˇc, H. S. Vishniac, S. Onofri,** Antonie Van Leeuwenhoek 2005, 87, 311. doi:10.1007/S10482-004-6783-X

150 **Zalar, P., G.S de Hoog, and N. Gunde-Cimerman.** 1999b. Ecology of halotolerantdothideaceous black yeast. Stud. Mycol. 43: 38-48.

151 **Zalar, P., G.S. de Hoog, and N. Gunde-Cimerman.** 1999a. *Trimmatostroma salinum*, anew species from hypersaline water. Stud. Mycol. 43: 57-62.

152 **Zvyagilskaya R., and B.L. Persson .**2005. A novel alkali-tolerant *Yarrowia lipolytica*strain for dissecting Na+-coupled phosphate transport systems in yeasts. Cell

Biol.Int. 29(1):87-94.

153 **Arxvon J.A.** The genera of fungi sporulating in pure culture Gramer Lehze, 1970.

154 **Kreisel H**. Grundzuge eines haturlichen systems der pilze Jena; G. Fisher 1969.

155 **Фритц Дж., Шенк Г.** 1978. Количественный Анализ, Москва, «Мир», 557.