

ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

ხელნაწერის უფლებით

მარინა ლასხიშვილი

საქართველოს მარილიან ნიადაგებსა და ტბებში გავრცელებული ჰალოფილური  
მიკროსკოპული სოკოები

03.00.07 \_მიკრობიოლოგია

ავტორეფერატი

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად  
წარდგენილი დისერტაციის

თბილისი  
2006

სამუშაო შესრულებულია ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა და  
ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტში

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

**გიორგი კვესიტაძე**  
ბიოლოგიის მეცნიერებათა  
დოქტორი

**ლალი ქუთათელაძე**  
ბიოლოგიის მეცნიერებათა  
კანდიდატი

ოფიციალური ოპონენტები:

**დოდო პატარია**  
ბიოლოგიის მეცნიერებათა  
დოქტორი  
03.00.23

**ზემფირა ალავიძე**  
მედიცინის მეცნიერებათა  
დოქტორი  
03.00.07

დისერტაციის დაცვა შედგება «.....» ..... 2006 წლის .....  
სთ-ზე

ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის  
სადისერტაციო საბჭოს BB 03.04 <sup>1</sup> 1 სხდომაზე

დისერტაციის გაცნობა შესაძლებელია ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა  
ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის ბიბლიოთეკაში

მისამართი: 0159, თბილისი, დ. აღმაშენებლის ხეივანი მე-10 კმ.

სადისერტაციო საბჭოს სწავლული მდივანი,  
ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატი

/ნ. შენგელია/

### პრობლემის აქტუალობა.

ჩვენი პლანეტის უძველეს ბინადრებს –ჰალოფილებს ”ფიზიოლოგიური შესაძლებლობის ზღვარზე მცხოვრებ ფორმებს”უწოდებენ. მიკროორგანიზმთა ეს ჯგუფი გარემოს უკიდურესად ექსტრემალურ პირობებს შეეგუა მძლავრი ანტიოქსიდანტური და მაღალეფექტური დამყანგავი სისტემის ჩამოყალიბებით. ციტოპლაზმური მემბრანის თვისებებზე დამყარებული რთული უჯრედშიგა რეგულაციის მექანიზმი ჰალოფილებს 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 (Vershinin A., 1999). 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 ბეტონინი და ექტონინი ცოცხალ უჯრედებსა და ბიოლოგიურ მოლეკულებს იცავს გარემოს აგრესიული ზემოქმედებისაგან(გაყინვა-გაღებობა, გაშრობა და ა.შ.). ეს ნაერთები, ამავე დროს მთელი რიგი ძვირადღირებული ფერმენტების (ლაქტატდეჰიდროგენაზა, ფოსფო-ფრუქტოკინაზა და სხვ.) სტაბილიზატორებსაც წარმოადგენენ.

ჰალოფილების მრავალი წარმომადგენელი ამჟღავნებს ნავთობგადამამუშავებელი და ქიმიური მრეწველობის სხვადასხვა ტოქსიური ნარჩენების დეგრადაციის უნარს, რის გამოც დღეს ჰალოფილებს განიხილავენ,

როგორც ანთროპოგენული ფაქტორებით დაბინძურებული გარემოს პოტენციურ “სანიტრებს” (Nicholson C., Fathepur B., 2004).

უცხო მიკროფლორით დაბინძურების მინიმალური რისკი მარილისმოყვარე მიკროორგანიზმების სამრეწველო მიზნით გამოყენების შესაძლებლობას კიდევ უფრო პერსპექტიულად წარმოაჩენს.

მდიდარი ბიოპოტენციალის მიუხედავად ამჟამად ბიოტექნოლოგიურ პროცესებში ჰალოფილები ნაკლებადაა რეალიზებული, ამავე დროს მსოფლიოში არსებული ჰალოფილური კოლექციები ძირითადად არჩეებითა 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 კონცენტრაციის, უკიდურესი pH-ისა და t°C-ის ) გავლენა საკვლევი ობიექტების ზრდის ინტენსივობაზე. ცალკეული მიკროსკოპული სოკოსათვის განსაზღვრულია pH -ის, t°-ის 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 (pH-ის, t°-ის და NaCl-ის კონცენტრაციებისადმი მდგრადობის მიხედვით); 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 არამარტო 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.

**ნაშრომის აპრობაცია.** დისერტაცია აპრობირებულია საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ს. დურმიშიძის სახელობის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის ბიოტექნოლოგიისა და მცენარეული სუბსტრატების ბიოკონვერსიის ლაბორატორიების გაერთიანებულ სხდომაზე.

**პუბლიკაციები.** დისერტაციის მასალების მიხედვით გამოქვეყნებული 3 სამეცნიერო შრომა.

**ნაშრომის მოცულობა და სტრუქტურა.** სადისერტაციო ნაშრომი შეიცავს შესავალს, ლიტერატურულ მიმოხილვას, ექსპერიმენტულ ნაწილს, დაკვნებს და ციტირებული ლიტერატურის სიას. .... გვერდს, ილუსტრირებულია ..... ცხრილით, ..... ნახაზით, ..... ფოტოსურათით.

## ექსპერიმენტალური ნაწილი

### მასალები და მეთოდები

კვლევის ობიექტებს შეადგენდნენ საქართველოს სხვადასხვა მარილიანი ნიადაგებიდან და ტბებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოები. ნიადაგისა და წყლის ნიმუშები აღებულ იქნა კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკეების მლაშობებიდან (Fomin, 2001), 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.

მიკრობიოლოგიური ჩათესვის წინ ვახდენდით ნიადაგის ნიმუშების წინასწარ დამუშავებას ნიადაგის აგრეგატების დისპერგირების, მიკროორგანიზმთა უჯრედების დესორბციის და მიკროკოლონიების ცალკეულ შემადგენელ უჯრედებად დაყოფის მეთოდებით (ЗВЯГИНЦЕВ 1980.). დამუშავებული ნიადაგის ნიმუშების ჩათესვას ვახორციელებდით ვაქსმანის ნიადაგების განზავების მეთოდით (Waksman, 1916) სხვადასხვა შემადგენლობის საკვები არეებზე(გ/ლ):

1. უნივერსალური არე - 0,5ლ ლუღის ბადაგი 7<sup>0</sup>B; 0,5ლ ონკანის წყალი; 20,0 აგარ-აგარი (pH-5,5-6,0)
2. ჩაპეკის შემჟავებული არე (ბაქტერიების დასათრგუნად) – გლუკოზა-20,0; NaNO<sub>3</sub>-9,1; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-1,0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-0,5; KCl-0,5; FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O-0,02; აგარ-აგარი-20,0 (pH-3,5-4,0)
3. ჩაპეკ-დოქსის არე – საქაროზა-30,0; NaNO<sub>3</sub>-2,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-1,0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-0,5; KCl-0,5; FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O-0,01; აგარ-აგარი-20,0 (pH-4,5-5,0).
4. სელექტიური საკვები არე – NaNO<sub>3</sub>-3,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-1,0; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-0,5; KCl-0,5; FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O -0,02; საფურის ექსტრაქტი-1,0; მიკროკრისტალური ცელულოზა-1,0; აგარ-აგარი-20,0 (pH-5,5-6,0).
5. ცელულოზის დამშლელი მიკროსკოპული სოკოების გამოსაყოფად გეტჩინსონისა და კლეიტონის საკვები არე – K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-1,0; CaCl<sub>2</sub>-0,1; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-0,3; NaCl-0,1; FeCl<sub>2</sub> -0,01; NaNO<sub>3</sub>- 2,5; აგარ-აგარი-20,0 (pH-5,5-6,0).

სტერილიზაციის რეჟიმი 0,5 ატმ, 30წთ. კულტივირებას ვაწარმოებდით 28<sup>o</sup>-30<sup>o</sup>C-ზე 10 დღის განმავლობაში.

სუფთა კულტურების იდენტიფიცირებისას ვეყრდნობოდით მიკროსკოპული სოკოების სხვადასხვა საკვლევებს (Пидопличко, Милько, 1971, Билай, Коваль, 1988, Литвинов, 1967; Malloch, et al. 1981).

გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების კოლონიების წარმომქმნელ ერთეულს (კწე) ვსაზღვრავდით 1გრ. მშრალ ნიადაგზე გადაანგარიშებით, ფორმულა  $A=abv/g$  (Дудко и др.1982).

ტემპერატურის მიხედვით ექსტრემოფილების გამოვლენის მიზნით მიკრომიცეტებს ვზრდიდით ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში 5<sup>o</sup> - 55<sup>o</sup> C-მდე, 5<sup>o</sup>C-იანი ინტერვალით; ალკალიფილებისა და pH ტოლერანტების გამოსავლენად - pH-2,0 დან pH-10,0 მდე დიაპაზონში, 0,5 ინტერვალით; ხოლო ჰალოფილობის ხარისხის დასადგენად - NaCl - ის სხვადასხვა კონცენტრაციების (0,5 M - 4,0M) შემცველ საკვებ არეებზე ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში ( 0<sup>o</sup> -55<sup>o</sup> C).

სიღრმული კულტივირება მიმდინარეობდა 750 მლ-იან ერლენმეიერის კონუსურ კოლბებში, თერმოსტატირებულ სანჯღრეველაზე (180-200ბრ/წთ), 30<sup>o</sup> C-ზე, 72 საათის განმავლობაში.

ამილაზების პროდუცენტების შესარჩევად კულტივირება მიმდინარეობდა შემდეგი შემადგენლობის თხევად არეში (%): სახამებელი-6,0; NaNO<sub>3</sub>-0,91; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0,1; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-0,05; KCl-0,05; FeSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O -0,0002; ალაოს ღივები-3,0; pH 5,0-5,5.

ცელულაზას პროდუცენტების გამოსავლენად (%)\_მიკროკრისტალური ცელულოზა-0,1; NaNO<sub>3</sub>-0,3; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0,2; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-0,05; სიმინდის ექსტრაქტი-1,5. pH 5,0-5,5

ქსილანაზას პროდუცენტების გამოსავლენად (%) – სოიოს ფქვილი – 3,0; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-1,5; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> SO<sub>4</sub>-0,2; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-0,015; KCl-0,05; pH-4,5.

პროტეაზას პროდუცენტების შესარჩევად(%) - KNO<sub>3</sub>-0,1; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-0,1; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O-0,007; KCl-0,05; FeSO<sub>4</sub>· H<sub>2</sub>O -0,005; საფუვრის ექსტრაქტი – 0,5; კაზეინი – 0,1; pH 5,0.

საერთო ცელულაზურ აქტივობას ვსაზღვრავდით ფილტრის ქაღალდის მიხედვით (Ghose, 1987)

აღმდგენელ შაქრებს - სომოჯი-ნელსონის მეთოდით (Nelson, 1944; Somogyi, 1952.).

α-ამილაზურ აქტივობას ვსაზღვრავდით ფერმენტული რეაქციის შედეგად მიღებული იოდ-სახამებლის ფერადი რეაქციის ინტენსივობით (Рухлядева, Горячева 1960).

პროტეაზურ აქტივობას - ანსონის მოდიფიცირებული მეთოდით (Anson M.Z.,1938).

ქსილანაზური აქტივობის განსაზღვრისას გამოიყენებოდა IUPAC -ის სტანდარტული მეთოდები.

ჰალოფილურ კოლექციაში ორგანული ტოქსიკანტების დეგრადაციის უნარის მქონე კულტურების შერჩევის მიზნით მიკროსკოპული სოკოებს ვზრდიდით საკვებ

არეზე, სადაც ნახშირბადის ერთადერთ წყაროდ შეგვექონდა სხვადასხვა ორგანული ტოქსიური ნივთიერებები. დეტოქსიკაციის უნარზე ვმსჯელობდით ასიმილირებული ორგანული ნივთიერების რაოდენობის მიხედვით.

## შედეგები და მათი განხილვა

საქართველოს მლამობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების გამოყოფა და იდენტიფიკაცია

ცნობილია, რომ მარილის მაღალი კონცენტრაციისადმი გამძლე მიკროორგანიზმები ძირითადად მლაშე ნიადაგებსა და მარილიან ტბებშია გავრცელებული (Oren A, 1990., Oren A., 1988; Lizama et al., 2002). ოლიტერატურულ მონაცემებზე დაყრდნობით, საქართველოში არსებული 48 ნიადაგური რაიონიდან შევარჩიეთ ორი განსხვავებული ეკოლოგიური ნიში – კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკეების მლამობები, რადგან ვვარაუდობდით, რომ დამლაშებული ნიადაგებიდან და ტბებიდან გამოყოფილი მიკოფლორა ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოებით იქნებოდა წარმოდგენილი. მლამობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების რაოდენობაზე ვმსჯელობდით კოლონიების წარმომქმნელი ერთეულის განსაზღვრით. მიღებული შედეგების საფუძველზე დადგინდა, რომ გარდაბნის რაიონში მრავალრიცხოვანი მიკოფლორით ხასიათდება კუმისის ტბის ნიადაგები, ხოლო ალაზნის ველზე – ვაკის პერიფერიული ნაწილი.

ექსპერიმენტის შედეგად გამოყოფილია 96 განსხვავებული სახეობის მიკროსკოპული სოკო, მათ შორის 44 – კახეთის, ხოლო 52 – ქვემო ქართლის ვაკის მლამობებიდან. ამავე დროს, ალაზნის ველის ნიადაგებიდან გამოყოფილ მიკრომიცეტებს შორის 20 ეკუთვნოდა ძლიერ დამლაშებულ, ხოლო 12-12 – საშუალო და სუსტი დამლაშების ზონებს. სიღნაღის ველის მლამობებიდან გამოყოფილ მიკრომიცეტებს შორის 32 ეკუთვნოდა კუმისის, ხოლო 20 – კრასნოგორსკის მარილიანი ტბების მიმდებარე ნიადაგებს.

მსხვილი ტაქსონომიური ერთეულის – კლასის დადგენის შემდეგ მიკროსკოპული სოკოების მორფოლოგიურ-კულტურალური თვისებების გათვალისწინებით მოხდა გვარების იდენტიფიკაცია, რისთვისაც მივმართავდით სქემას, რომელიც შესასწავლი სახეობის სისტემატიკურ პოზიციაზე იყო დამოკიდებული. სარკვევებზე დაყრდნობით საქართველოს მლამობ ნიადაგური რაიონებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოები მიეკუთვნა *Aspergillus*-ის, *Chaetomium*-ის, *Penicillium*-ის, *Fusarium*-ის, *MMucor*-ის, *Cladosporium*-ის, *Allesheria*-ს, *Trichoderma*-ს და *Rhizopus*-ის გვარებს.

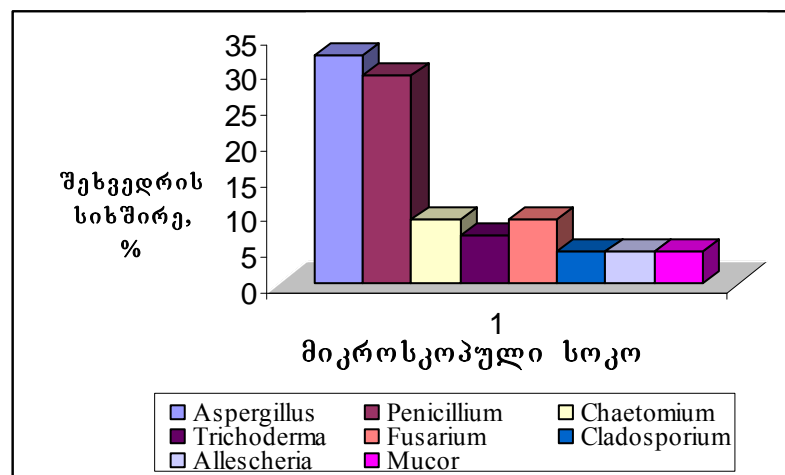
ამრიგად, ჩატარებული ექსპერიმენტის შედეგად შექმნილია კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკის მლამობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების კოლექცია, რომელიც 96 განსხვავებული სახეობის მიკრომიცეტს ითვლის. ისეთი კოლექციის შექმნას, სადაც წარმოდგენილი იქნება საქართველოს მლამობ ნიადაგური



რეგიონებისთვის დამახასიათებელი მიკროსკოპული სოკოების გენოფონდი, სამრეწველო მასშტაბით დიდი პრაქტიკული მნიშვნელობა ენიჭება.

საქართველოს მლაშობ-ნიადაგური რაიონებიდან გამოყოფილი მიკროსკოპული სოკოების იდენტიფიკაციის შემდეგ შესაძლებელი გახდა მიკრომიცეტების სხვადასხვა გვარების გავრცელების კანონზომიერებების დადგენა და დომინანტი გვარების გამოვლენა.

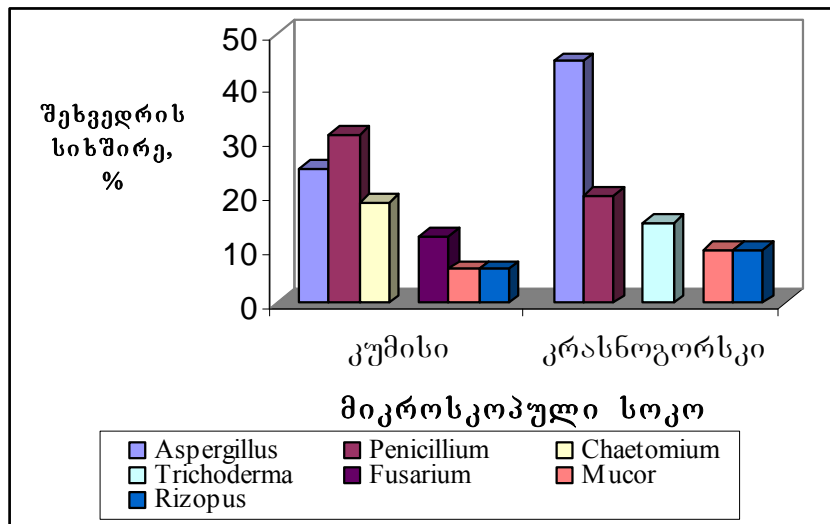
1 და 2 დიაგრამებზე წარმოდგენილია კახეთისა და ქვემო ქართლის ვაკის მარილიან ნიადაგებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გვარები და მათი შეხვედრის სიხშირეები. როგორც ჩანს, ალაზნის ველის პირველი რანგის დომინანტს Ascomycetes კლასის გვარები – *Aspergillus* და *Penicillium* წარმოადგენს. აღნიშნული რეგიონები ღარიბი აღმოჩნდა Zygomycetes კლასის წარმომადგენლებით. ამ კლასის ერთადერთი გვარი *Mucor*-ი მხოლოდ საშუალო დამლაშების ნიადაგისთვის იყო დამახასიათებელი.



### დიაგრამა 1

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

რაც შეეხება ქვემო ქართლის ვაკის – სოღანლუდის ველის მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების შეხვედრის სიხშირეს, როგორც 12დიაგრამიდან ჩანს, კუმისისა და კრასნოგორსკის მარილიანი ტბების მლაშობებში, კახეთის ვაკის მიკოფლორის მსგავსად, დომინირებს *Aspergillus*-ის და *Penicillium*-ის გვარები. კუმისის ნიადაგებში არ გვხვდება *Trichoderma*-ს გვარი, რომელიც კრასნოგორსკის მლაშობებისთვის იყო დამახასიათებელი, ხოლო ამ უკანასკნელის მიკოფლორისთვის არაა დამახასიათებელი *Chaetomium* და *Fusarium*-ის გვარები, რომლებიც ნიშანდობლივი იყო კუმისის მარილიანი ნიადაგებისთვის.



**დიაგრამა 2**

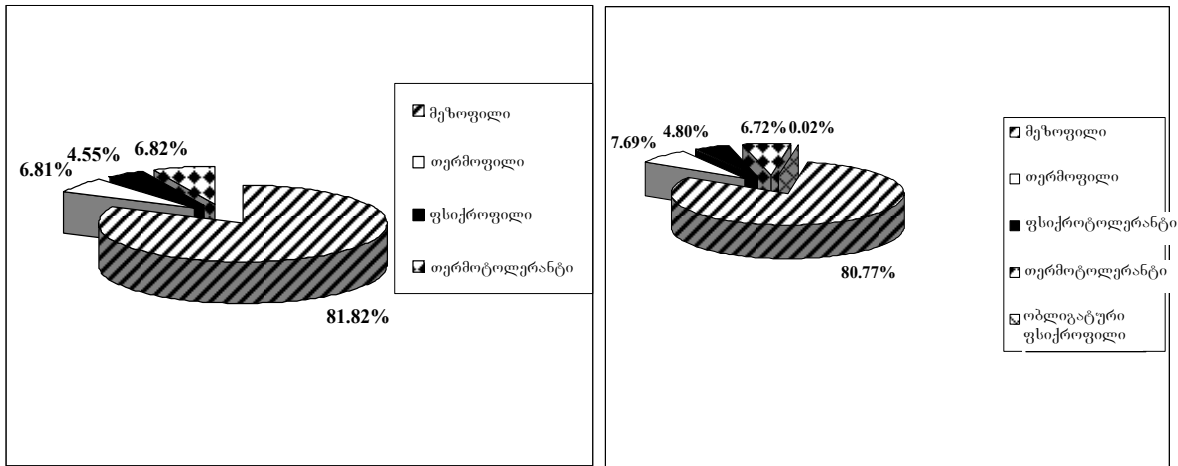
ქვემო ქართლის ვაკის (სოდანლულის ველის) მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების გვარები და მათი შეხვედრის სიხშირე

საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა

ჩვენი კვლევის შემდგომ მიზანს წარმოადგენდა კოლექციის ცალკეული შტამების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა სხვადასხვა პარამეტრების (ტემპერატურა, pH, NaCl –ის სხვადასხვა კონცენტრაციები) მიხედვით.

კოლექციის კულტურების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა დავიწყეთ მათი სასიცოცხლო ტემპერატურული საზღვრებისა და ტემპერატურული ოპტიუმის შესწავლით. ამ მიზნით მიკროსკოპულ სოკოებს ვზრდიდით 1M NaCl-ის შემცველ, წინასწარშერჩეულ, უნივერსალურ აგარიზებულ საკვებ არეზე, ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში 0-დან 55°C-მდე, 5°C-იანი ინტერვალით.

ცნობილია, რომ ბუნებაში არსებულ მიკროორგანიზმთა უმრავლესობა მეზოფილია (Билай, 1985). ჩვენს ექსპერიმენტშიც, საქართველოს მლაშობებიდან გამოყოფილი მიკოფლორის დაახლოებით 82% შეადგინა მეზოფილურმა კულტურებმა, რომელთა ზრდის ოპტიუმში იყო 28-30°C. (დიაგრამა 3).



**დიაგრამა 3.**

დიაგრამა 3. განსხვავებულ ტემპერატურულ დიაპაზონში მზარდი ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების შეხვედრის სიხშირე (%)

- ა) კახეთის რეგიონი
- ბ) ქართლის რეგიონი

ჩატარებული კვლევის საფუძველზე კახეთის რეგიონის მლაშობებიდან გამოყოფილ მიკროსკოპულ სოკოებს შორის შერჩეულია 8 ექსტრემოფილი ტემპერატურაზე დამოკიდებულების მიხედვით(ცხრილი 1), მათ შორის 3 კულტურა - *Aspergillus sp A2*, *Aspergillus spA -26* და *Chaetomium sp A-36* თემოფილურ მიკროორგანიზმებს წარმოადგენდა, ზრდის ტემპერატურული ოპტიმუმით 40-45°C, ხოლო სასიცოცხლო საზღვრები 20 °C -დან 55 °C -ის დიაპაზონში იყო მოთავსებული.

საქართველოს მარილიან ნიადაგებსა და ტბებში გავრცელებული ტემპერატურის მიხედვით ექსტრემოფილური მიკროსკოპული სოკოები

კულტურის დახასიათება	კულტურის დასახელება	
	კახეთის ვაკის მლაშობები	ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობები
თერმოფილი	<i>Aspergillus</i> sp. A-2	<i>Aspergillus</i> sp. K-1
	<i>Aspergillus</i> sp. A-26	<i>Aspergillus</i> sp. K-2
	<i>Chaetomium</i> sp. A-36	<i>Chaetomium</i> sp. KM-13 <i>Trichoderma</i> sp. K2-6
თერმოტოლერანტი	<i>Trichoderma</i> sp. A-40	<i>Aspergillus niger</i> KM2-2
	<i>Trichoderma</i> sp. A-41	<i>Aspergillus</i> sp. KM-6
	<i>Trichoderma</i> sp. A-42	<i>Penicillium</i> sp. K-9
ფსიქროფილი	<i>Fusarium</i> sp. A-10	<i>Fusarium</i> sp. KM3-1
	<i>Fusarium</i> sp. A-43	<i>Fusarium</i> sp. KM-18
ობლიგატური ფსიქროფილი		<i>Mucor</i> sp. KM2-2

შერჩეული ექსტრემოფილებიდან ორი მიკროსკოპული სოკო - *Fusarium* spA10 და *Fusarium. sp. A43* დაბალ ტემპერატურაზე (5°C-ზე) იზრდებოდა და ამავე დროს ზრდის უნარს 40°C-ზეც ამჟღავნებდა. ამის გამო ეს ორი მიკრომიცეტი კლასიფიცირდა, როგორც - ფსიქროტოლერანტი.

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

*Trichoderma*-ს გვარის სამივე კულტურა: *Trichoderma* sp.A40, *Trichoderma* sp.A41 და *Trichoderma* sp. A42 ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში (5°C–დან 55°C-მდე) ზრდის უნარს გამო თერმოტოლერანტების ჯგუფში გავაერთიანეთ.

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებიდან გამოყოფილ მიკროსკოპულ სოკოებს შორის შეირჩა 10 ექსტრემოფილი ტემპერატურის მიხედვით(ცხრ.1), მათ შორის ოთხი თერმოფილი - - *Aspergillus* spK1, *Aspergillus. sp* K2,*Trichoderma* sp. K2-6 და *Chaetomium* sp. KM13. ამათგან პირველი სამი კულტურა კრასნოგორკის მლაშობებიდან იქნა მიღებული, ხოლო *Chaetomium* sp. KM13–კუმისის მარილიანი ტბების მიმდებარე ნიადაგებიდან. ფართო ტემპერატურულ დიაპაზონში (5 °C-დან 55 °C-მდე) ზრდის უნარით გამოირჩეოდა *Aspergillus niger* KM-2-2, *Aspergillus niger* KM6 და *Penicillium* sp.K9, რის გამოც აღნიშნული კულტურები თერმოტოლერანტთა ჯგუფში გავაერთიანეთ. შევნიშნავთ, რომ *Aspergillus*-ის გვარის თერმოტოლერანტები კუმისის მლაშობებიდან იქნა მიღებული, ხოლო *Penicillium* -კრასნოგორსკიდან.

ქვემო ქართლის ვაკის ექსტრემოფილებს შორის ფსიქროფილები გამოვლინდა მხოლოდ კუმისის მარილიანი ნიადაგების მიკოფლორაში, კერძოდ, ორი მიკროსკოპული სოკო *Fusarium* sp. KM3-1 და *Fusarium* sp. KM18 იზრდებოდა 5°C -დან

40°C–მდე ტემპერატურულ დიაპაზონში, რის გამოც კლასიფიცირდა როგორც ფსიქროტოლერანტები.

ამ რეგიონის ვაკის მლაშობებიდან გამოყოფილ მიკრომიცეტებს შორის ერთადერთ კულტურას *Mucor sp.* KM2-2-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.

მიკროორგანიზმების მორფოლოგიურ თვისებებზე დაკვირვებისას გამოვლინდა, რომ კრიტიკულ ტემპერატურასთან მიახლოებისას საკვლევი სოკოების უმრავლესობა მკვეთრად იცვლიდა მორფოლოგიურ და კულტურალურ თვისებებს. ამავე დროს, სხვადასხვა გვარის სოკოები განსხვავებულად რეაგირებდა ტემპერატურის ცვალებადობაზე. მაგ. *Fusarium*-ის გვარის ზოგიერთ სახეობას (*Fusarium sp*A7, *Fusarium sp*A9, *Fusarium. sp* A43) მაღალ ტემპერატურაზე სპორების დეგენერაცია აღნიშნებოდა; *Mucor*-ის გვარის შტამს – *Mucor sp.* A.-23-ს 35°C-ის ზემოთ ფუმფულა მიცელიუმი ტყავისებურით ეცვლებოდა; *Aspergillus sp* A28, *Aspergillus. sp* A-3 და *Aspergillus sp* A-4 სპორათა შერწყმა ეზღუდებოდა, ხოლო ამ გვარის ზოგიერთი კულტურა (*Aspergillus sp* A30, *Aspergillus sp* A-29) შეფერილობასაც კი იცვლიდა. ტემპერატურის ვარირებით გამოწვეული მსგავსი მორფოლოგიური ცვლილებები მრავალი ავტორის მიერაა აღწერილი (Williams C.1959; Bonner R., Fegus CH.1960).

საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ჰალოფილობის ხარისხის დადგენა

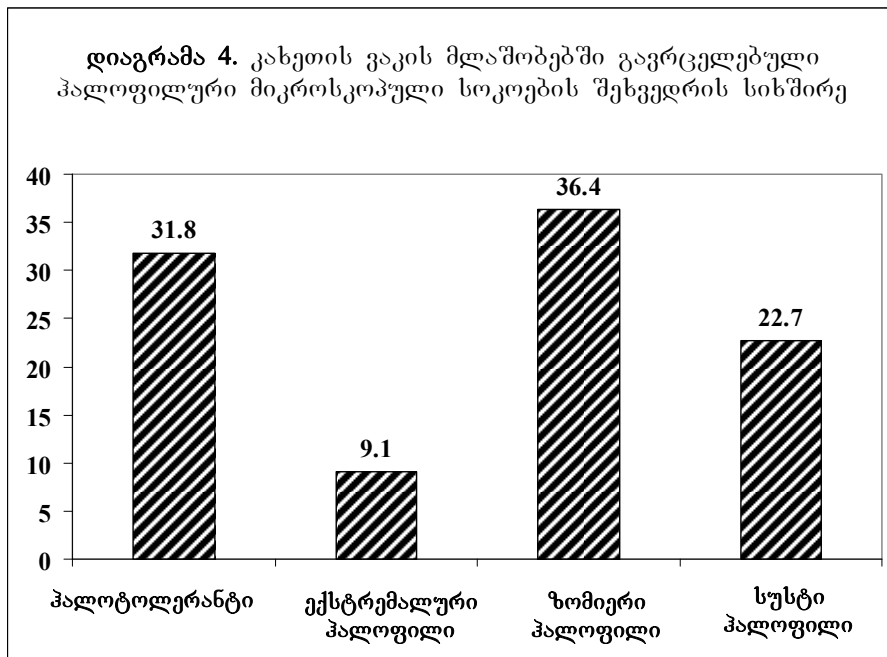
საქართველოს მლაშობებში გავრცელებული მიკოფლორის ჰალოფილობის ხარისხის დადგენის მიზნით, უნივერსალურ აგარიზებულ საკვებ არეზე, NaCl-ის კონცენტრაციების ფართო დიაპაზონში (0-დან 4M) გამოკვლეულ იქნა კოლექციის შტამების მარილისადმი გამძლეობა და მოთხოვნილება კულტივირების ტემპერატურაზე დამოკიდებულებით.. აღნიშნული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

ექსტრემალურ ჰალოფილებად მივიჩნიეთ კულტურები, 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).

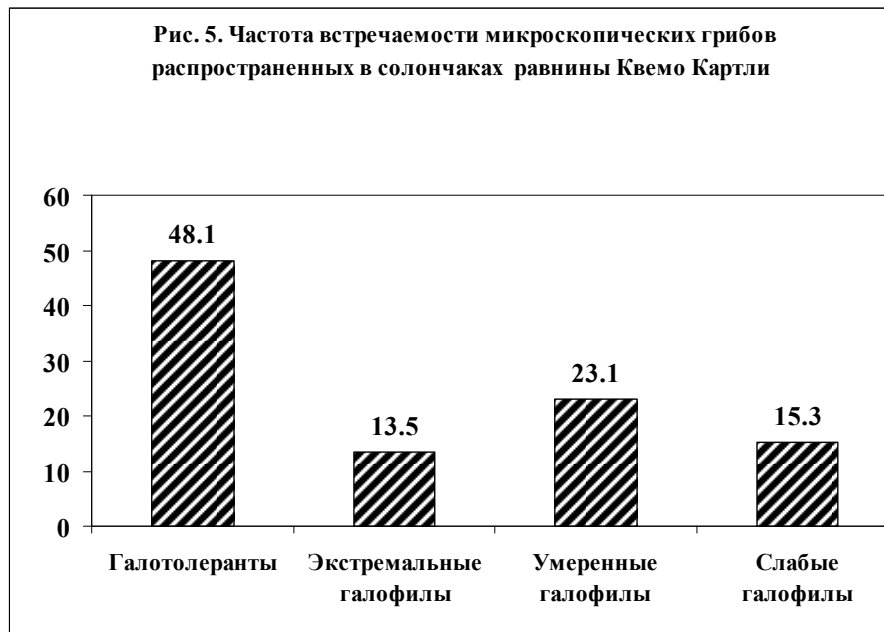
სუსტი ჰალოფილების გამძლეობის საზღვარი არ აღემატებოდა NaCl-ის 2M-ს.

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 (დიაგრამა 4 და 5)



**დიაგრამა 5.** ქვემო ქართლის მლაშობებში გავრცელებული ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების შეხვედრის სიხშირე

ჰალოტოლერანტი      ექსტრემალური ჰალოფილი      ზომიერი ჰალოფილი      სუსტი ჰალოფილი



ექსპერიმენტის შედეგად კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებულ ჰალოფილური მიკროსკოპულ სოკოებს შორის გამოვლენილია 4 - ექსტრემალური, 14 -ჰალოტოლერანტული, 16 - ზომიერი და 10 - სუსტი ჰალოფილი.

გამოვლენილ ექსტრემალურ ჰალოფილებს შორის 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.

ზოგიერთი ავტორის მონაცემებით(Ventosa A.,et al.,1998), მლაშობებში ჰალოტოლერანტული ფორმები რაოდენობრივად აჭარბებს სუსტ და ზომიერ ჰალოფილებს. ჩვენს ექსპერიმენტშიც, ქვემო ქართლის ვაკის მარილიან ნიადაგებში გავრცელებული მიკოფლორის უმრავლესობას ჰალოტოლერანტული მიკრომიცეტები შეადგენდნენ (დიაგრამა 5). ექსპერიმენტის საფუძველზე კუმისისა და კრასნოგორსკის მარილიანი ტბების მლაშობებიდან გამოვლენილია 25 ჰალოტოლერანტი, 7 – ექსტრემალური, 12 – ზომიერი და 8-სუსტი ჰალოფილი.

ჩვენს მიერ იდენტიფიცირებული სოკოების ყველა გვარში ვხვდებოდით ჰალოტოლერანტულ ფორმებს, განსაკუთრებით მაღალი სიხშირით *Aspergillus*-ის (9 კულტურა) და *Penicillium*-ის (7 კულტურა) გვარებში. 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.

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

საქართველოს მლამობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოების ექსტრემოფილობის ხარისხის დადგენა pH-ის მიხედვით

ცნობილია, რომ მიკროორგანიზმთა სასიცოცხლო საზღვრებს საარსებო გარემოს pH განსაზღვრავს. ბუნებაში უფრო ხშირად გვხვდება ნეიტრალური ან საშუალო მჟავიანობის ეკოსისტემები, რის გამოც მიკროორგანიზმთა უმრავლესობა pH-ის ზემოთაღნიშნულ საზღვრებთანაა ადაპტირებული, თუმცა არსებობს მიკროორგანიზმებიც, რომელთაც ნეიტრალურიდან საკმაოდ დამორებულ pH-ზეც შესწევს ზრდის უნარი (Chose T.,1987).

მრავალი ავტორი მიუთითებს ალკალიფილების არსებობაზე მლამობ რეგიონებში (Guiraud,1997; Razak et all,1999, Horikohi 1999). აქედან გამომდინარე, ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების კოლექციაში სავარაუდო იყო ალკალიფილებისა და pH - ტოლერანტების არსებობა.

№2 და 3 ცხრილებში წარმოდგენილია pH- ის მიხედვით ექსტრემოფილური მიკროსკოპული სოკოები. როგორც №2 ცხრილიდან ჩანს, კახეთის მლამობების კოლექციის 44 შტამიდან 15 ჰალოფილი ექსტრემალური აღმოჩნდა pH-ის მიხედვით. მათ შორის ჭარბობდა ალკალიფილები (10 კულტურა). შედარებით დაბალი სიხშირით გვხვდებოდა pH-ტოლერანტები (5 კულტურა). აღსანიშნავია, რომ pH-ის მიხედვით ექსტრემოფილების სიუხვით ხასიათდებოდა ძლიერი დამლაშების ნიადაგები (9 ექსტრემოფილი). საშუალო მარილიანობის ზონიდან შერჩეულია მხოლოდ ორი, ხოლო სუსტი დამლაშებიდან – 4 ექსტრემოფილი.

ცნობილია, რომ *Penicillium* -ის *Fusarium* -ისა და *Aspergillus* –ის გვარის ზოგიერთ წარმომადგენელს ახასიათებს pH 2-10 დიაპაზონში ზრდის უნარი( W.Kladwang-2002). ჩვენს ექსპერიმენტშიც გამოვლენილი pH-ტოლერანტები სწორედ ზემოაღნიშნულ გვარებს ეკუთვნოდა. შევნიშნავთ, რომ ალკალიფილები არ გამოვლენილა მხოლოდ *Allescheria* და *Cladosporium* –ის გვარებში.

კახეთის ვაკის მლამობების მიკოფლორის მსგავსად, ქვემო ქართლის მარილიანი ნიადაგების მიკოფლორაშიც ჭარბობდა ალკალიფილები (11 კულტურა). გამოვლენილია 7 pH-ტოლერანტი, რომელთაც pH-ის ფართო დიაპაზონში შესწევდა ზრდის უნარი. აღსანიშნავია, რომ ქვემო ქართლის ვაკის მლამობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოს თითქმის ყველა გვარში, *Chaetomium*-ისა და *Mucor*-ის გარდა, გვხვდებოდა ალკალიფილები, ხოლო pH-ტოლერანტული ფორმები დამახასიათებელი იყო *Aspergillus*-ის, *Penicillium*-ის, *Chaetomium*-ის და *Fusarium*-ის მიკროსკოპული სოკოების კულტურებისთვის.

ცხრილი 2

კახეთის ვაკის მლამობებში გავრცელებული pH-ის მიხედვით ექსტრემოფილური მიკროსკოპული სოკოები



მიკროსკოპული სოკო	გამოყოფის ადგილი	კულტურის სასიცოცხლო pH-ის დიაპაზონი	ოპტიმალური pH	კულტურის დახასიათება
1	2	3	4	5
1. <i>Aspergillus</i> sp.A25 2. <i>Aspergillus</i> sp.A26 3. <i>Aspergillus</i> sp.A29 4. <i>Aspergillus</i> sp. A31 5. <i>Penicillium</i> sp. A33 6. <i>Penicillium</i> sp. A34 7. <i>Chaetomium</i> sp. A36 8. <i>Trichoderma</i> sp. A40 9. <i>Trichoderma</i> sp. A41	ძლიერი დამლაშების ნიადაგები	5.0-10.0 5.0-10.0 2.5-10.0 2.5-10.0 2.5-10.0 4.5-10.0 4.5-10.0 4.5-10.0 5.0-10.0	9,0 9,0 4-8.0 4-8.0 3.5-7.5 9,0 9,0 9,0 9,0	ალკალიფილი ალკალიფილი pH-ტოლერანტი pH-ტოლერანტი pH-ტოლერანტი ალკალიფილი ალკალიფილი ალკალიფილი ალკალიფილი
10. <i>Mucor</i> sp. A-23 11. <i>Mucor</i> sp. A-24	საშუალო დამლაშების ზონა	4.5-10.0 4.5-10.0	4,0 5,5	ალკალიფილი ალკალიფილი
12. <i>Aspergillus</i> sp. A2 13. <i>Fusarium</i> sp. A7 14. <i>Fusarium</i> sp. A8 15. <i>Fusarium</i> sp. A10	სუსტი დამლაშების ზონა	4.5-10.0 2.5-10.0 2.5-10.0 4.5-10.0	9,0 4.5-8.0 4.5-8.0 9,0	ალკალიფილი pH-ტოლერანტი pH-ტოლერანტი ალკალიფილი

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

მიკროსკოპული სოკო	კულტურის სასიცოცხლო pH- დიაპაზონი	ოპტიმალური pH H	კულტურის დახასიათება
1. <i>Aspergillus niger</i> K10-15	2,5-10,0	4,0-7,0	pH-ტოლერანტი
2. <i>Aspergillus niger</i> K 2-1	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
3. <i>Aspergillus flavus</i> K2-8	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
4. <i>Aspergillus</i> sp. K-2	2,0-10,0	4,0-7,0	pH-ტოლერანტი
5. <i>Aspergillus niger</i> KM2-5	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
6. <i>Aspergillus niger</i> K M2-2	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
7. <i>Penicillium</i> sp. KM-8	2,5-10,0	4,0-7,0	pH-ტოლერანტი
8. <i>Penicillium</i> sp. K6-2	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
9. <i>Penicillium</i> sp. KM3-17	2,5-10,0	5,0-7,0	pH-ტოლერანტი
10. <i>Penicillium</i> sp. KM6-3	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
11. <i>Penicillium</i> sp. KM-12	2,5-10,0	7,0	pH-ტოლერანტი
12. <i>Trichoderma</i> sp. K2-3	5,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
13. <i>Trichoderma</i> sp. K2-6	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
14. <i>Trichoderma lignetum</i> K2-7	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
15. <i>Chaetomium</i> sp. KM-15	2,5-10,0	5,0-7,0	pH-ტოლერანტი
16. <i>Fusarium</i> sp. KM3-1	2,5-10,0	5,0-7,0	pH-ტოლერანტი
17. <i>Fusarium</i> sp. KM6-1	5,0-10,0	9,0	ალკალიფილი
18. <i>Rhizopus</i> sp. K-24	4,0-10,0	9,0	ალკალიფილი

საქართველოს მლაშობებში გავრცელებულ pH-ის მიხედვით ექსტრემოფილურ მიკრომიცეტებს შორის სხვა პარამეტრებით ექსტრემოფილებსაც შევხვდით. კახეთის ვაკის მლაშობების კოლექციაში მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილად შეფასდა 5 ალკალიფილური მიკროსკოპული სოკო, რომელიც ერთდროულად სამი პარამეტრით (pH-ით, ტემპერატურით, NaCl-ის მიმართ მდგრადობით) იყო ექსტრემოფილი: *Aspergillus* sp. A-26, *Chaetomium* sp. A-36 *Trichoderma* sp. A-40) და *Trichoderma* sp. A-41 *Fusarium* sp. A-10, ხოლო ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობების მიკოფლორიდან კი - 4 კულტურა (ცხრილი№ 4)

## საქართველოს მლამობებში გავრცელებული მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილები

№	კულტურის დასახელება	კულტურის დახასიათება
	<b>კახეთის რეგიონი</b>	
1	<i>Aspergillus</i> sp. A 26	ალკალიფილი, თერმოფილი, ექსტრემალური ჰალოფილი
2	<i>Chaetomium</i> - sp. A36	ალკალიფილი, თერმოფილი, ჰალოტოლერანტი
3	<i>Trichoderma</i> sp. A40	ალკალიფილი, თერმოტოლერანტი, ჰალოტოლერანტი
4	<i>Trichoderma</i> sp. A41	ალკალიფილი, თერმოტოლერანტი, ზომიერი ჰალოფილი
5	<i>Fusarium</i> sp. A10	ალკალიფილი, ფსიქროტოლერანტი, ჰალოტოლერანტი
	<b>ქვემო ქართლის რეგიონი</b>	
1	<i>Aspergillus</i> sp. K2	pH ტოლერანტი, თერმოფილი, ჰალოტოლერანტი
2	<i>Aspergillus</i> sp. KM 2-2	ალკალიფილი, თერმოტოლერანტი, ჰალოტოლერანტი
3	<i>Trichoderma</i> sp. K 2-6	ალკალიფილი, თერმოფილი, ზომიერი ჰალოფილი
4	<i>Fusarium</i> sp. K 3-1	pH ტოლერანტი, ფსიქროტოლერანტი, ჰალოტოლერანტი

საქართველოს მლამობებში გავრცელებული მიკროსკოპული სოკოები – ამილაზების, ცელულაზების, ქსილანაზებისა და პროტეაზების პროდუცენტები.

ბიოტექნოლოგიის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანეს პრობლემას წარმოადგენს სტაბილური ფერმენტების მიღება. ამგვარი ფერმენტების პერსპექტიულ პროდუცენტებს, სავარაუდოდ, უნდა წარმოადგენდნენ გარემოს ექსტრემალურ პირობებთან ადაპტირებული მიკროორგანიზმები. განსაკუთრებით საინტერესოა ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები, რომელთა ბიოპოტენციალი ამჟამად ნაკლებადაა რეალიზებული.

სხვადასხვა ფერმენტების (ამილაზების, ცელულაზების, ქსილანაზებისა და პროტეაზების) აქტიური პროდუცენტების შერჩევის მიზნით, გამოყოფილ 96 ჰალოფილურ მიკროსკოპულ სოკოს შორის ჩატარდა სკრინინგი კულტივირების ოპტიმალურ პირობებში. ექსპერიმენტის შედეგები წარმოდგენილია 15 და 16 ცხრილებში.

კახეთის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული სხვადასხვა ფერმენტების პროდუცენტი  
ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები

მიკროსკოპული სოკო	ცელულაზა ერთ/მლ	ამილაზა		ქსილანაზა ერთ/მლ	პროტეაზა, ერთ/მლ
		αერთ/მლ	გლუკო, ერთ/მლ		
1	2	3	4	5	6
1. <i>Aspergillus</i> sp.A25					0,7
2. <i>Aspergillus</i> sp.A26	0,86	3,2			
3. <i>Aspergillus</i> sp.A29			24,5		
4. <i>Aspergillus</i> sp.A31		4,2			
5. <i>Penicillium</i> sp.A34	1,20				
6. <i>Penicillium</i> sp.A35				9,2	
7. <i>Chaetomium</i> sp.A36	0,50				
8. <i>Trichoderma</i> sp.A40			12,2		
9. <i>Penicillium</i> sp.A19				5,7	
10. <i>Mucor</i> sp.A23	0,75			3,4	
11. <i>Mucor</i> sp.A24		3,7			
12. <i>Aspergillus</i> sp.A2			7,0		
13. <i>Aspergillus</i> sp.A4	1,0				
14. <i>Fusarium</i> sp.A9		5,1			
15. <i>Fusarium</i> sp.A10			5,9		
16. <i>Penicillium</i> sp.A16		1,5			0,34

ქვემო ქართლის ვაკის მლაშობებში გავრცელებული სხვადასხვა ფერმენტების პროდუცენტი ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოები

მიკროსკოპული სოკო	ცელუ-ლაზა ერთ/მლ	ამილაზა ერთ/მლ	გლუკო, ერთ/მლ	ქსილა-ნაზა ერთ/მლ	პროტე- აზა, ერთ/მლ
1. <i>Aspergillus niger</i> K 2-1		8,15			
2. <i>Aspergillus flavus</i> K2-8		3,5	11,4		
3. <i>Aspergillus</i> sp. K-1	1,15				
4. <i>Aspergillus</i> sp. K 2	0,82				
5. <i>Aspergillus niger</i> KM6-11			17,3		
6. <i>Aspergillus niger</i> K 2-1			23,9		0,4
7. <i>Aspergillus niger</i> K 2-5		4,1			
8. <i>Aspergillus niger</i> KM2-2				8,5	
9. <i>Penicillium</i> sp. K-9		3,7	7,8	9,8	
10. <i>Penicillium</i> sp. K6-2				11,4	
11. <i>Penicillium</i> sp. KM3-17					0,8
12. <i>Penicillium</i> sp. KM4-4	0,95				
13. <i>Penicillium</i> sp. KM6-3				7,7	
14. <i>Penicillium</i> sp. KM-10				5,0	
15. <i>Penicillium</i> sp. KM-12				5,7	
16. <i>Penicillium</i> sp. KM-27			8,0		
17. <i>Trichoderma</i> sp. K2-3	0,5				
18. <i>Trichoderma</i> sp. K2-6	0,3	4,3	5,75		
19. <i>Chaetomium</i> sp. KM4-2					0,6
20. <i>Chaetomium</i> sp. KM1-3	0,78				
21. <i>Fusarium</i> sp. KM3-1		5,8			
22. <i>Fusarium</i> sp. KM6-1	0,3				
23. <i>Mucor</i> sp. K-19					1,5
24. <i>Aspergillus niger</i> K 2-12		9,0			

ჩატარებული კვლევის საფუძველზე საქართველოს მლაშობების მიკროსკოპული სოკოების კოლექციიდან შერჩეულია ფერმენტების პროდუცენტი 49 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 (Chandi C., Ratch, 1997). ქსილანაზას პროდუცენტებს შორის გვხვდება მხოლოდ *Penicillium*-ის გვარის კულტურები.

უნდა აღინიშნოს, რომ გამოკვლეული 5 ფერმენტული აქტივობიდან, ერთდროულად სამი ფერმენტის - ამილაზას, გლუკოამილაზას და ქსილანაზას სინთეზის უნარს ამჟღავნებდა მეზოფილური კულტურა *Penicillium* sp. KM 6- 2, ასევე *Trichoderma* sp. K 2-6, რომელიც წარმოადგენს ცელულაზას, ამილაზას და გლუკოამილაზას პროდუცენტს. ეს უკანასკნელი ამავე დროს, შეფასებულია, როგორც მაღალი ხარისხის ექსტრემოფილი.

ჰალოფილური მიკროორგანიზმების ბიოპოტენციალის უკეთ გამოვლენის მიზნით შვეიცარულ შექმნილი კოლექციის კულტურებით ტოქსიკური ნივთიერებების ბიოდეგრადაციის შესაძლებლობა.

ლიტერატურიდან ცნობილია, რომ ტოქსიკური ნივთიერებებით დაბინძურებული ნიადაგები, განსაკუთრებით ქიმიური საწარმოების მიმდებარე ტერიტორიები, ხასიათდება მაღალი მარილიანობით. აქედან გამომდინარე, ინტერესს იწვევდა ჰალოფილურ კულტურებს შორის ტოქსიკური ნივთიერებების დეგრადაციის უნარის მქონე შტამების გამოვლენა. ამ მიზნით ჰალოფილურ კულტურებს ვზრდიდით საკვებ არეებზე, სადაც ნახშირბადის ერთადერთ წყაროს წარმოადგენდა ისეთი კანცეროგენული ნივთიერებები, როგორცაა - ფენოლი, ბენზოლი და ბენზპირენი. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია №7 ცხრილში. როგორც ცხრილიდან ჩანს, ჰალოფილური კოლექციის 8 მიკროსკოპული სოკო გამოირჩევა ორგანული ტოქსიკანტების ბიოდეგრადაციის მაღალი უნარით. კერძოდ, ფენოლის ასიმილაციის მაღალი ხარისხით ხასიათდება 4 კულტურა, ბენზპირენის 2 და ბენზოლის - 2.

ცხრილი 7

ორგანული ტოქსიკანტების ასიმილაცია ჰალოფილური კულტურების მიერ

№	კულტურა	ნარჩენი სუბსტრატი,%		
		ფენოლი	ბენზოლი	ბენზპირენი
1.	<i>Aspergillus</i> sp. K-2	5,5	6,7	56,7
2.	<i>Penicillium</i> sp A 32	57,8	45,7	34,8
3	<i>Fusarium</i> sp A43	78,9	33,7	59,7
4	<i>Trichoderma</i> sp K2-3	2,7	6,7	35,7
5	<i>Mucor</i> sp.K19	5,4	79,6	7,9
6	<i>Mucor</i> sp A23	67,9	67,9	77,3
7	<i>Aspergillus</i> sp. KM2-2	7,8	57,7	60,9
8	<i>Trichoderma</i> sp A 40,	2,7	28,7	5,7

ამრიგად, ჩატარებული სამუშაოს საფუძველზე შექმნილია ჰალოფილური მიკროსკოპული სოკოების კოლექცია, შერჩეულია მაღალი ბიოპოტენციალის ექსტრემოფილური კულტურები, რომლებიც შეიძლება, წარმატებით იქნეს გამოყენებული სხვადასხვა ტექნოლოგიურ პროცესებში.

დასკვნა

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 გავრცელებული 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 Ascomycetes 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.* K 2-6 ნაჩვენებია ჰალოფილური კულტურებით ტოქსიური ნაერთების ბიოდეგრადაციის შესაძლებლობა. შერჩეულია 8 დეტოქსიკანტი.

დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული სამეცნიერო შრომების სია:

1. Kvesitadze E., Kharebashvili M., Khokhashvili I., Kutateladze L., Sabashvili N., Laskhishvili M. - Microscopic Fungi Strains- the Producers of Proteolytic Enzymes - Proceedings of the Georgian Academy of Sciences, Biological Series. 2005, V. 3, N 3, pp.56-60
2. Laskhishvili M. Kutateladze L., Zakhariashvili N., Glonti N., Khokhashvili I., Jobava M., Isolation and Identification of Microscopic Fungi from Salty soils -Proceedings of the Georgian Academy of Sciences, Biological Series. 2006, V. 3, N4, pp.55-59
3. Laskhishvili M. Kutateladze L., Zakhariashvili N., Aleksidze T., Daushvili L., Kvesitadze E-Isolation and Identification of Microscopic Fungi from Salty soils of Kakheti ( Alazani) Valley Proceedings of the Georgian Academy of Sciences, Biological Series. 2006, V. 4, N1, pp.72-76