

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტი

თეონა სოლომნიშვილი

ატმის, ალუბლის და ქლიავის ნერგებიდან *Fusarium*-ის
პათოგენური სახეობების იდენტიფიკაცია გენეტიკური
მარკერებით

საბაკალავრო ნაშრომი

"გამოყენებითი ბიომეცნიერებები და ბიოტექნოლოგია"

საბაკალავრო ნაშრომი შესრულებულია გამოყენებითი
ბიომეცნიერებები და ბიოტექნოლოგიის ბაკავადრის აკადემიური
ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები: პროფ. ჯორჯ კარაოგლანიდისი

სალონიკის არისტოტელეს
უნივერსიტეტი

ასოც. პროფ. მარიამ გაიდამაშვილი თსუ

თბილისი

2013

ანოტაცია

მავნებლებთან ბრძოლის ერთ-ერთ თანამედროვე სტრატეგიას წარმოადგენს მცენარეული პათოგენების გამოვლენა და მათი სწრაფი იდენტიფიკაცია, რაც უზრუნველყოფს მავნებლებისაგან მცენარეთა დაცვის სწორი სტრატეგიების შემუშავებასა და აგრო-პროდუქციის წარმოებას მინიმალური დანაკარგებით. *Fusarium* პათოგენური სოკოს სახეობაა, რომელიც იწვევს ფართო სპექტრის აგროკულტურების დაავადებას. *Fusarium*-ით ინოკულირებული ატმის, ალუბლის და ქლიავის ნერგებიდან მიღებული იქნა სოკოს სუფთა კულტურები. კულტურაში მიღებული სოკოს სახეობებიდან განხორციელდა სახეობა-სპეციფიკური დნმ-ს ფრაგმენტების ამპლიფიკაცია ოლიგონუკლეოტიდური პრაიმერების გამოყენებით. პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის გამოყენებით მოხდა დაავადებული მცენარეთა ნიმუშებიდან *Fusarium*-ის სამი პათოგენური სახეობის: *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum* იდენტიფიკაცია. დადგენილი იქნა *F. equiseti* გავრცელების მაღალი (72.88%) სიხშირე სხვა პათოგენურ სახეობებთან მიმართებაში.

Identification of the pathogenic *Fusarium* species from the seedlings of peach, cherry and plum using genetic markers

Detection and rapid identification of the plant pathogens is the one of the successful strategy for plant protection. This approach provides the effective defense of agricultural crops and minimum losses in agricultural production. *Fusarium* causes fungal diseases of variety of agricultural crops. From the infected seedlings of peach, cherry and plum pure fungal cultures were established. DNA was isolated from the each culture and species-specific DNA fragments were amplified using oligo-nucleotide primers. Based on the PCR three pathogenic *Fusarium* species were identified: *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*. High rate (72.88%) of the allocation of *F. equiseti* was detected in compare to other pathogenic species.

შ ი ნ ა ა რ ს ი

შესავალი.....	4
---------------	---

თავი 1. ლიტერატურული მიმოხილვა

1.1 Fusarium-ის გავრცელება და მორფო–ფიზიოლოგიური დახასიათება.....	6
1.2 Fusarium-ის ტოქსინები და მათი მოქმედების მექანიზმი.....	10
1.3 Fusarium–ით გამოწვეული ინფექციები ატმის, ალუბლის და ქლიავის ნერგებში.....	13

თავი 2. კვლევის მეთოდები

2.1 Fusarium - ით ინფიცირებული მცენარეებიდან სოკოს სუფთა კულტურების მიღება და მშრალი საკვლევი მასის მიღება.....	15
2.2 საკვლევი ნიმუშიდან დნმ–ის იზოლაცია.....	17
2.3 სახეობა სპეციფიკური დნმ ფრაგმენტების ამპლიფიკაცია, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდით.....	19
2.4 ელექტროფორეზი აგაროზას გელში.....	20

თავი 3. მიღებული შედეგები.....	21
--------------------------------	----

დასკვნა.....	24
--------------	----

გამოყენებული ლიტერატურა.....	25
------------------------------	----

შესავალი

Fusarium წარმოადგენს მცენარეთა პათოგენური სოკოს სახეობას, რომელიც ფართოდ არის გავრცელებული ბუნებაში, განსაკუთრებით დიდი რაოდენობით გვხვდება ტენიან ნიადაგებში და იწვევს სოფლის მეურნეობისათვის მნიშვნელოვანი კულტურული მცენარეების დაავადებებს. *Fusarium*-ით გამოწვეული ეკონომიკური ზარალი სოფლის მეურნეობაში ყოველწლიურად მილიონობით დოლარს აღწევს. ამიტომ ძალიან მნიშვნელოვანია მისი პათოგენური სახეობების შესწავლა და მათი იდენტიფიკაცია, რაც საშუალებას მოგვცემს სწორი მეთოდებით ვებრძოლოთ მათ მიერ გამოწვეულ დაავადებებს.

მცენარის დაავადების ციკლი მოიცავს შემდეგ ეტაპებს: 1. მასპინძელი მცენარის ზედაპირზე მოხვედრა და მისი გავრცელების გზები, 2. სპორების განვითარების პირობები და მცენარეში შეჭრის გზები. *Fusarium* ის შემთვევაში ეს გზები არის მცენარის მთავარი ან გვერდითი ფესვები და მცენარის დაზიანებული ადგილები. 3. შეჭრილი სპორები ვითარდება მცენარის ქსოვილებში და ხდება მისი გადაადგილება ჭურჭლების საშუალებით მცენარის თითქმის ყველა ქსოვილში. ამ ეტაპზე დაავადების სიმპტომები ჯერ არ არის გამოჩენილი. 4. ხდება ავადმყოფობის და მისი სიმპტომების სრული გამოჩენა. სოკოს ამ სახეობისთვის დამახასიათებელია მასპინძელ მცენარეთა ფართო სპექტრი. იგი სხვადასხვა სახის დაავადებებს იწვევს ეკონომიკურად და სოფლის მეურნეობისთვის მნიშვნელოვან თითქმის ყველა კულტურაში. *Fusarium* ით გამოწვეული ინფექციებისთვის დამახასიათებელი ე.წ. უსიმპტომობა. ინფექციის პროცესში მცენარეს არ აღენიშნება გარკვეული სიმპტომები, დაავადება აშკარა ხდება უკვე ბოლო სტადიაზე, როდესაც შეუძლებელია მცენარის გადასარჩენად რაიმე ღონისძიებების გატარება. ამიტომ მასთან ბრძოლა შესაძლებელია მხოლოდ პრევენციული ზომების მიღებით, რაც არ არის საკმარისი მცენარეთა გადასარჩენად და ეკონომიკური ზარალისთვის თავის ასარიდებლად. აღსანიშნავია რომ პათოგენური *Fusarium* მკვეთრად ზრდის ფერმერის ხარჯებს და შესაბამისად უარყოფითად მოქმედებს გლობალურ ეკონომიკასა და სოფლის მეურნეობაზე.

სოკოს ამ პათოგენურ სახეობასთან ბრძოლას ართულებს მისი გენეტიკური მრავალფეროვნებაც, თითოეული სახეობისთვის დამახასიათებელი გენეტიკური

თანმიმდევრობის შესწავლა საშუალებას მოგვცემს შევიმუშაოთ მასთან ბრძოლის ახალი და ზუსტი მეთოდები, რომლებიც მიმართული იქნება კონკრეტული სახეობის მიმართ. თანამედროვე ტექნოლოგიის, მეცნიერების და მეთოდების გამოყენებით შესაძლებელი გახდა მათი იდენტიფიკაცია გენეტიკურ დონეზე.

სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა *Fusarium*-ის პათოგენური სახეობების იდენტიფიკაცია გენეტიკური მარკერების საშუალებით ატმის, ალუბლის და ქლიავის ნერგებიდან ლაბორატორიულ პირობებში. ამ მიზნის მისაღწევად დასახული იყო შემდეგი ამოცანები:

1. მცენარეების შერჩევა და ინოკულაცია *Fusarium*-ით
2. სანერგე მასალიდან სოკოს კულტურების მიღება
3. მიღებული მასალიდან დნმის იზოლაცია
4. მოლეკულური მარკერებით მათი გენეტიკური თანმიმდევრობის განსაზღვრა, იდენტიფიკაცია.

აღნიშნულ სამუშაოში პირველად მოხდა მცენარეების შერჩევა მათი მნიშვნელობის მიხედვით სოფლის მეურნეობაში და შესაბამისად ეკონომიკური თვალსაზრისით. შეირჩა შემდეგი აგროკულტურები: ატამი, ალუბალი და ქლიავი რის შემდეგაც ლაბორატორიულ პირობებში გავზარდეთ მათი დაავადებული ნერგები საიდანაც მოხდა სოკოს სუფთა კულტურების მიღება.

მიღებული სოკოს შტამები კულტივირებულ იქნა თხევად საკვებ არეში საიდანაც უნდა მიგვეღო საკვლევი მასალა, დნმ *Fusarium*-ის სახეობების იდენტიფიკაციისთვის გენეტიკური მარკერების გამოყენებით.

ჩატარებული კვლევის შედეგად იდენტიფიცირებულ იქნა *Fusarium*-ის სამი პათოგენური სახეობა: *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*. დადგენილ იქნა *F. equiseti* გავრცელების მაღალი სიხშირე 72.88% სხვა პათოგენურ სახეობებთან მიმართებაში.

სამუშაოში გამოყენებულ იქნა კვლევის თანამედროვე მეთოდები, დნმ-ის იზოლაცია, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქცია და ელექტროფორეზი აგაროზას გელში, რომლის მეშვეობითაც ხდებოდა *Fusarium*-ის სახეობებიდან დნმ-ის ექსტრაქცია, სპეციფიკური დნმ ფრაგმენტების ამპლიფიკაცია (PCR) და *Fusarium*-ის პათოგენური სახეობების იდენტიფიცირება ელექტროფორეზით აგაროზას გელში.

ნაშრომი შესრულებულია სალონიკის არისტოტელეს უნივერსიტეტის, მცენარეთა პათოლოგიის კათედრის ლაბორატორიის მატერიალურ-ტექნიკურ ბაზაზე.

თავი 1 ლიტერატურული მიმოხილვა

1.1 Fusarium-ის გავრცელება და მორფო-ფიზიოლოგიური დახასიათება

დღეისათვის საგრძნობლად გაიზარდა ინტერესი მცენარეთა მავნებლების მიმართ. მათ მიერ გამოწვეული ეკონომიური ზარალის და ბიომრავალფეროვნებაზე უარყოფითი ზემოქმედების გამო. აგროკულტურების დანაკარგის ნახევარზე მეტი სწორედ მავნებლების ზემოქმედებით არის გამოწვეული, ამიტომ მნიშვნელოვნაია მავნებლების ზუსტი იდენტიფიკაცია და მათ წინააღმდეგ საბრძოლველად ალტერნატიული ღონისძიებების დანერგვა, რაშიც გადამწყვეტ როლს თანამედროვე ტექნოლოგიები ასრულებს.(13)

Fusarium მცენარეთა პათოგენური სოკოს სახეობაა, რომელიც დაავადების გამოწვევია თითქმის ყველა ეკონომიკურად მნიშვნელოვან აგროკულტურაში, როგორიცაა მარცვლოვნები, პარკოსნები, ხილი, ბოსტნეული და ა.შ. მისი მასპინძელი მცენარეების ფართო სპექტრის და სოფლის მეურნეობისთვის მიყენებული ზარალის გამო, მეცნიერებისთვის დიდ ინტერესს წარმოადგენდა და დღესაც წარმოადგენს მისი პათოგენური სახეობების შესწავლა და იდენტიფიკაცია.(17) სოკოს ამ პათოგენურ სახეობასთან ბრძოლას ართულებს მისი გენეტიკური მრავალფეროვნებაც, აღსანიშნავია რომ Fusarium სახეობების იდენტიფიკაცია და კლასიფიკაცია მხოლოდ ფენოტიპური, მორფოლოგიური და ფიზიოლოგიური ნიშნებით მეცნიერებისთვის წარმოადგენდა სირთულეს. გენეტიკური მრავალფეროვნების გამო მეტად დიდ შრომას მოითხოვდა მათი წმინდა კულტურებში შესწავლა და ცვალებადობის კანონზომიერების დადგენა. თითოეული სახეობისთვის დამახასიათებელი გენეტიკური თანმიმდევრობის შესწავლა საშუალებას მოგვცემს შევიმუშაოთ მასთან ბრძოლის ახალი და ზუსტი მეთოდები, რომლებიც მიმართული იქნება მხოლოდ ერთი კონკრეტული სახეობის მიმართ.(13, 10)

კლასიფიკაციის მიხედვით Fusarium განეკუთვნება: სამეფო– Fungi, ქვესამეფო– Dikarya, რიგი–ascomycota, ქვერიგი–Pezizomicota, კლასი–Sordaryomycetes, რიგი–Hypocreals, ოჯახი–Neqtriaceae, სახეობა–Fusarium. არის ჟანგბადის მოყვარული ანუ მისთვის დამახასიათებელი აერობული სუნთქვის ტიპი. ხოლო კვების ტიპის მიხედვით ქემოორგანოტროფია, რაც ნიშნავს რომ ენერგიას იღებს ქიმიკატებისაგან. კარგად იზრდება

ორგანულ სუბსტრატზე, მოსწონს ლაქტატი და აცეტატი, ნახშირბადის წყაროს წარმოადგენს ორგანული მჟავები. მისთვის დამახასიათებელია ძალიან ფართო ტემპერატურული ოპტიმუმი, კარგად მრავლდება 7–35°C შუალედში. მისთვის ოპტიმალური ტენიანი გარემო 35–85% შუალედში, თუმცა არსებობა შეუძლია უფრო მშრალ პირობებშიც. არახელსაყრელი პირობების შემთხვევაში ნიადაგში შეიძლება არსებობდეს ანაბიოზურ მდგომარეობაში 30 და მეტი წლის განმავლობაშიც კი და შემდეგ ხელსაყრელი პირობების შექმნისას გახდეს ინფექციის წყარო მცენარისთვის.(10, 12)

როგორც ყველა სოკოსთვის მის სხეულსაც წარმოადგენს მიცელიუმი, რომელიც სხვადასხვა საკვებ არეზე იძლევა განსხვავებული შეფერილობის კულტურებს. ბამბისებური თეთრიდან დაწყებული მუქ ლუჯამდე ფერთა სპექტრში. მაგალითად: ხორბლიან საკვებ არეზე სამი დღის შემდეგ გვამლევს ნარინჯისფერ ან მოვარდისფრო კულტურებს, ვაშლის 3% აგარზე ღია ყავისფერი შეფერილობა აქვს, ასევე ხშირად დამახასიათებელია მოწისფერი კულტურები.(9,10) გამოიმუშავენ ისეთ ცნობილ მიკოტოქსინებს როგორიცაა ფუმონიზინი, ზეარალენონი და ტრიქოტერცინი.(1) პეტრის ჯამებზე გამრავლებისას ივითარებს საკაერო ჰიფებს, რომლის განშტოებებიც ბოლოვდება კონიდიოსპორებით, უსქესო სპორებით. ისინი წამოადგენენ ინფექციის ძირითად წყაროს მცენარეებში. საპროფიტი სოკოს ამ სახეობისთვის დამახასიათებელია სამი სახის სპორების განვითარება. მიკროკონიდიები – პატარა ზომის კონიდია ერთ ან ორ უჯრედიანი, წარმოიქმნება ყველანაირ პირობებში უხვი რაოდენობით, ამ ტიპის სპორები ყველაზე ხშირად იჭრებიან და მრავლდებიან მცენარის ჭურჭლებში და აქედან იწყებენ ინფექციურ პროცესებს. მაკროკონიდიები – შედარებით დიდი ზომის კონიდიებია, შედგება სამიდან ხუთითმდე უჯრედისაგან, არის რკალის ფორმის.(19) ეს სპორები, რომლებიც ყველაზე ხშირად გვხვდება მცენარის ზედაპირზე, მცენარის დაღუპვას იწვევს სპოროდონიების მსგავსი სიმპტომებით. ქლამიდიოსპორები – აქვს ორი ან სამი უჯრედი, მრგვალი ან ოვალური ფორმის, აქვს სქელი უჯრედის კედელი და წარმოქმნის ტერმინალურ ინტრაცელულარულ მიცელიუმს ან მაკროკონიდიას.(10,9,15)

ეს სპორები მოკლე მანძილზე შეიძლება გავრცელდეს საირიგაციო სისტემით ან სხვა ფერმერული მოწყობილობებით ხოლო დიდ მანძილზე ქარის, დაავადებული თესლით ან ნაყოფით. მცენარის დაავადების ციკლი მოიცავს იგივე ეტაპებს რაც სხვა მიკროორგანიზმების შემთხვევაში პირველი ეტაპია მასპინძელი მცენარის ზედაპირზე მოხვედრა და მისი გავრცელების გზები, შემდეგ სპორების განვითარების პირობები და

მცენარეში შეჭრის გზები. *Fusarium* ის შემთვევაში ეს გზები არის მცენარის მთავარი ან გვერდითი ფესვები და მცენარის დაზიანებული ადგილები. მესამე ეტაპზე შეჭრილი სპორები ვითარდება მცენარის ქსოვილებში და ხდება მისი გადაადგილება ჭურჭლების საშუალებით მცენარის თითქმის ყველა ქსოვილში. ამ ეტაპზე დაავადების სიმპტომები ჯერ არ არის გამოჩენილი. ხოლო უკვე ბოლო ეტაპზე ხდება ავადმყოფობის და მისი სიმპტომების სრული გამოჩენა. სწორედ ეს მორფო – ფიზიოლოგიური თავისებურებები განაპირობებენ მის პათოგენურობას, ამიტომ მნიშვნელოვანია ამ მახასიათებლების კვლევა და შესწავლა.(2,19)

Fusarium ით გამოწვეული ინფექციითვის დამახასიათებელია ე.წ. "უსიმპტომობა" ანუ ინფექციის პროცესში მცენარეს არ აღენიშნება გარკვეული სიმპტომები, დაავადება აშკარა ხდება უკვე ბოლო სტადიაზე, როდესაც შეუძლებელია მცენარის გადასარჩენად რაიმე ღონისძიების გატარება. ამიტომ მასთან ბრძოლა შესაძლებელია მხოლოდ პრევენციული ზომების მიღებით, რაც არ არის საკმარისი მცენარეთა გადასარჩენად და ეკონომიკური ზარალისთვის თავის ასარიდებლად. აღსანიშნავია რომ პათოგენური *Fusarium* მკვეთრად ზრდის ფერმერის ხარჯებს და შესაბამისად უარყოფითად მოქმედებს გლობალურ ეკონომიკასა და სოფლის მეურნეობაზე. (17, 10)

Fusarium–ის სახელს უკავშირდება მცენარეთა ისეთი პათოლოგიები და დაავადებები როგორიცაა: საერთო ფესვების ლჰობა, ფესვის წვეროების ლჰობა, კვირტები და ნაყოფების ლჰობა, ჭკნობა, ტუბერების მშრალი ლჰობა კარტოფილში და პანამას დაავადება ბანანში. აღსანიშნავია რომ ბანანის *Cros Michelis* ჯიშის გაქრობა სწორედ პათოგენური სოკოს სწორედ ამ სახეობით არის გამოწვეული. (17,120)

აღნიშნული დაავადებები ინფექციის ბოლო სტადიაზე შეიძლება ამოვიცნოთ მათთვის დამახასიათებელი სიმპტომებით. *Fusarium* – ით გამოწვეული ჭკნობა ძირითადად გვხვდება მარცვლოვნებში ბოსტნეულში უმეტესად ერთწლიან მცენარეებში. ინფიცირების დროს მცენარის ორგანიზმში შეჭრილი მიკროორგანიზმები, მეტაბოლიზმის შედეგად გამოყოფენ ტოქსინებს, რომლებიც უჯრედის წვეთთან ერთდ გადაადგილდებიან მცენარის მთელ ორგანიზმში, იწვევენ ინტოქსიკაციას რაც გამოვლინდება ჭკნობის სახით. სოკოებით გამოწვეული ჭკნობისთვის დამახასიათებელია მცენარეთა ე.წ. ჯგუფურად ჩაწოლა. მცენარის ფოთლები იწყებს გაყვითლებას და შემდეგ ხდება ყავისფერი და მალევე ილუპება მცენარე. დაავადებული მცენარის ფესვები თავიდან

გამოიყურებიან ჯანმრთლად მაგრამ მოგვიანებით ხდება მოწითალო ყავისფერი და მალევე იღუპება. კვირტების ღპობა დამახასიათებელია ხილისთვის, ინფიცირების შემთხვევაში აღმოცენებული კვირტების ამპუტაცია ხდება ძალიან მალე შესაბამისად მკვეთრად მცირდება მოსავალი. ერთ– ერთი კომერციულად ყმნიშვნელოვანი კულტურაა კარტოფილი, რომელშიც *Fusarium* იწვევს ტუბერების ღპობას, თვდაპირველად არ შეინიშნება არანაირი სიმპტომები და ძალიან სწრაფად ხდება ტუბერების ღპობის დაწყება და მცენარის დაღუპვა. კარტოფილის მოსავლის დანაკარგის საკმაოდ დიდი პროცენტი სწორედ ამ პათოგენით არის გამოწვეული. აღსანიშნავია, რომ *Fusarium*-ს შეუძლია მცენარის დაავადების გამოწვევა განვითარების ყველა სტადიაზე, რაც კიდევ უფრო ართულებს მასთან ბრძოლას და ზრდის ზარალის ოდენობას.(15, 10, 9)

1.2 Fusarium–ის ტოქსინები და მათი მოქმედების მექანიზმი

წინა თავში აღვნიშნეთ, რომ პათოგენით მცენარის ინფიცირება ხდება ოთხ ეტაპად 1.პათოგენური მიკროორგანიზმის საწყისის მცენარის ზედაპირზე მოხვედრა, 2.ინოკულუმის ანუ სპორების განვითარებისთვის საჭირო პირობები და მისი მცენარეში შეჭრის გზები, 3. შეწრილი სპორების მცენარის ქსოვილებში განვითარება სიმპტომების გარეშე (ინკუბაციის პერიოდი), 4. ავადმყოფობის სრული გამომჟღავნება. ეს ეტაპები გულისხმობს ძალიან რთულ ბიოქიმიურ და ფიზიოლოგიურ პროცესებს რომლებიც გამოწვეულია მოცემული პათოგენის მიერ.(2,10)

ჯანმრთელი მცენარის ინფიცირება Fusarium–ით ხდება დაბიძგებული ნიადაგიდან, თუ ნიადაგში შეიქმნა პათოგენისთვის ხელაყრელი პირობები. სოკოები მცენარეში იჭრება ფესვებიდან სპორების ან მიცელიუმის სახით. ფესვები შეიძლება დაინფიცირდეს პირდაპირ ფესვების წვეროებიდან, ფესვის დაზიანებული ადგილებიდან ან გვერდითი ფესვებიდან. თავდაპირველად მცენარეში სპორებიდან განვითარდება მიცელიუმი და გაიზრდება ფესვის კორტექსში ინტრაცელულარულად. როდესაც მიცელიუმი მიაღწევს ქსილემას, ის გადავა მცენარის ჭურჭლების საშუალებით ქსილემის ფოსოში. შემდეგ ეტაპზე მიცელიუმი რჩება ჭურჭლებში და გადაადგილდება მცენარის ზედა ნაწილებში ღეროებისა და კენწეროსკენ. როგორც კი გაიზრდება მიცელიუმი ტოტებში და გამოიმუშავებს მიკროკონიდიებს ისინი იწყებენ მოძრაობას მთელ მცენარეში ძარღვების მეშვეობით. როდესაც მიკროკონიდია და მიცელიუმი შეძლებენ შეაღწიონ ქსილემის ძარღვების კედლებში, მიკროკონიდიას საშუალება ეძლევა გადაადგილდეს მომდევნო ჭურჭლებში სპორებს ისევე როგორც მიცელიუმს შეუძლიათ გადაადგილდნენ გვერდითი ფესვებიდან ქსილემის ფოსოებისკენ ძარღვების საშუალებით. (5, 2,18)

სოკოს პათოგენურობა განისაზღვრება მისი უნარით შეიჭრას მცენარი ვასკულარულ სისტემაში ფესვების საშუალებით. ასევე არსებობს შესაძლო გარემოებები რომლებშიც სოკოები ითვლება არაპათოგენურად. პირველ შემთხვევაში სოკოს არ შეუძლია თვითონ შეიჭრას მცენარის ვასკულარულ სისტემაში ხოლო მეორე შემთხვევაში არაპათოგენურობა გამოწვეულია მცენარის იმუნური სისტემის მოქმედებით, იგი მოქმედებს სწრაფად და არ აძლევს სოკოს საშუალებას რომ გაიზარდოს. *F. oxysporum* აქვს ბევრი სპეციფიკური სახეობა რომლებიც არსებობენ როგორც მცენარის პათოგენები, რომლებიც დიფერენცირებულნი არიან მასპინძელი მცენარის და გამოწვეული

დაავადებების მიხედვით მაგალითად ფესვის ღეროს და ხილის სიდამპლე, ასევე ვასკულარული ჭკნობა. (15, 10,18)

მცენარის ბოჭკოებში მათი შეღწევა გავლენას ხდენს მცენარის წყლით მომარაგებაზე. წყლის მომარაგების დაბლოკვას მოჰყვება ფოთლის ბაგეების დახურვა და ფოთლების გახმობა. ამ ეტაპზე უკვე შესაძლებელია სიმპტომების შემჩნევაც ფოთლები ყვითლება და შემდეგ უკვე ხდება ყავისფერი სანამ საბოლოოდ დაეცემა მცენარე. დაავადების პროცესში სოკო საბოლოოდ მიაღწევს ხილამდეც და შეუცვლის ფერს ყვითელ ტონამდე. ხშირად მცენარე იღუპება მანამდე სანამ მიაღწევს მომწიფების სტადიას. ამ ეტაპზე სოკო შეიჭრება მცენარის პარენქიმულ ქსოვილში და იგი საბოლოოდ მიაღწევს ქსოვილის ზედაპირს სადაცის შეძლებს სპორულაციას. შედეგად სპორებიდან წარმოიქმნება ახალი სოკოები ახალი თაობა.რომლების მასპინძელი მცენარის დაღუპვის შემდეგ ისევ ხვდებიან ნიადაგში და "ელოდებიან" ახალ მასპინძელს. (2, 10,)

Fusarium-ის 50-ზე მეტი სახეობა გამოიმუშავებს ტოქსინებს რომლებიც ძირითადად ინფექციებს იწვევენ მარცვლეულის ისეთ სახეობებში როგორიცაა ხორბალი და სიმინდი ასევე სხვა სოფლის მეურნეობისთვის მნიშვნელოვან კულტურებში. მიკოტოქსინის ისეთ სახეობებს როგორიცაა: ფუმონიზინი(B1,B2),რომელიც გავლენას ახდენს ცხენის ნერვულ სისტემაზე და არის სიმსივნის გამომწვევი მღრღნელებში. ტრიქოტეცენსი(T-2), რომელიც არის ერთ-ერთი ძლიერი ტოქსინი და ასოცირდება ადამიანის და ცხოველის ქრონიკული დაავადების ან ფეტალური შედეგის გამომწვევ ტოქსინთან. ზეარალენონი(F-2) – იგი არ იძლევა ფეტალურ შედეგს ადამიანში მაგრამ საკმაოდ ძლიერი ტოქსინია. ასევე ფუზარიუმის ტოქსინებს მიეკუთვნება ფუზარინი, ექუსეტინი, ბუტელონიდი და სხვა.(1,18)

ტრიქოტეცენსი(T-2) ეს მიკოტოქსინი არის სოკოვანი მეტაბოლიტების წევრი. ეს ტოქსინები განაწილებული ორ ჯგუფში: მაკროციკლური და არამაკროციკლური T-2 ტოქსინი შედის არამაკროციკლურების ჯგუფში, ეს ჯგუფი იყოფა ასევე A და B ტიპის ტრიქოტეცინებად. მარცვლეული, ხორბალი, ქერი, ჭვავი, შვრია და სხვა კულტურები შეიცავენ ამ ტოქსინს. ბუნებრივი სახით გავრცელებულია აზიაში აფრიკაში, ევროპაში ჩრდილო და სამხრეთ ამერიკაში.ბუნებრივ დონეზე მისი ტოქსიკურობის სპექტრი მერყეობა ნულიდან 10 ppm მდე ხოლო გამონაკლისის შემთხვევებში 15 –40 ppm. ტოქსინის მწარმოებლურობა ყველაზე დიდია 6°C დან 24°C გრადუსამდე ინტერვალში. პროდუქტის

შენახვა 14% ტენიანობის პირობებში ამცირებს სოკოს ზრდას და შესაბამისად ტოქსინის წარმოებასაც. გარდა ამისა მარცვლეული ინახება მწერებისგან დაცულ, მშრალ და მზიან ადგილას სადაც დაბინძურების საფრთხე ნაკლებია. ფუზარიუმის ობი მარცვლოვნებზე ძირითადად არის თეთრი ფერის, თუმცა ასევე შეიძლება იყოს მოვარდისფრო ან მოწითალო . ზოგჯერ ლურჯი ან შავი ლაქის პოვნა ჩენჩოებზე და ყუნწებზე მიუთითებს დაბინძურებაზე. დაბინძურებული მარცვლები მსუბუქია, ადვილად იფშვება თითებს შორის, ხასიათდება მყიფე ცარცისებრი ენდოსპერმით. T -2 ტოქსინის და სხვა ტრიქოტენცინების ძირითადი დამახასიათებელი თვისებაა ცილის სინთეზის ინჰიბირება, რაც მოსდევს დნმ ის და რნმ ის სინთეზის დათრგუნვას. ეს კი გავლენას ახდენს ისეთი უჯრედების აქტიურად დაყოფაზე როგორიცაა კუჭ– ნაწლავის ტრაქტის, კანის, ლომფოციტების და ერთროციტების უჯრედები. ისინი ამცირებენ ანტისხეულების და იმუნოგლობულინების დონეს და სხვა იმუნურ ფაქტორებს.(4) მისის მოქმედება იწვევს წონაში კლებას, სისხლიან დიარეას, კანის ნეკროზებს და ა.შ. ზეარალენონი ერთერთი ფართოდ გავრცელებული მიკოტოქსინია, გვხვდება როგორც მარცვლეულში ისე ხილში.(7)იგი წარმოადგენს რეზოცინის მჟავის ლაქტონს, საკვებში მისი დასაშვებ ნორმაზე მეტის მოხვედრა (1.0მგ/კგ) იწვევს მოწამვლას. მისი ტოქსიკურობა მდგომარეობს ჰიპერესტროგენიზმში და მუტაგენურობაში. (16,3)

1.3 Fusarium–ით გამოწვეული ინფექციები ატმის, ალუბლის და ქლიავის ნერგებში

სოფლის მეურნეობაში და შესაბამისად ეკონომიკური თვალსაზრისით, აღსანიშნავია რომ Fusarium–ის პათოგენური სახეობები ინფექციებს იწვევს მარცვლოვნებშიც ,როგორიცაა ხორბალი, სიმინდი, ქერი და ა.შ. ამიტომ მეცნიერული კვლევები ძირითადად ჩატარებული ამ მცენარეებზე და მათ დაავადებებზე, რადგან ისინი ეკონომიკურად ძალზე მნიშვნელოვან კულტურებს წარმოადგენენ ასევე ადვილია მათზე კვლევების ჩატარება. ხოლო ჩვენს შემთხვევაში შერჩეული ხილის სახეობები ქლიავი, ატამი და ალუბალი წარმოადგენს არა ნაკლებ მნიშვნელოვან კულტურებს, რომლებსაც ფართო გამოყენება აქვს როგორც ახალი ხილი ისე ხილის პროდუქტების წარმოებაში. ისინი წარმოადგენენ ადამიანის ჯანმრთელობისთვის ძალიან მნიშვნელოვან პროდუქტს და შესაბამისად მათზე მოთხოვნაც ძალიან დიდია დღევანდელ სამომხმარებლო ბაზარზე. გამომდინარე იქიდან რომ გლობალურ სოფლის მეურნეობაში ძალიან დიდია ხილის ამ სახეობების დანაკარგი სოფლის მეურნეობაში და შესაბამისად ეკონომიკური თვალსაზრისით, ასევე აღსანიშნავია რომ Fusarium ის ეს პათოგენური სახეობები ინფექციებს იწვევს მარცვლოვნებშიც ,როგორიცაა ხორბალი, სიმინდი, ქერი და ა.შ. ამიტომ მეცნიერული კვლევები ძირითადად ჩატარებული ამ მცენარეებზე და მათ დაავადებებზე. ხოლო ჩვენს შემთხვევაში შერჩეული ხილის სახეობები ქლიავი, ატამი და ალუბალი წარმოადგენს არა ნაკლებ მნიშვნელოვან კულტურებს, რომლებსაც ფართო გამოყენება აქვს როგორც ახალი ხილი ისე ხილის პროდუქტების წარმოებაში. ისინი წარმოადგენენ ადამიანის ჯანმრთელობისთვის ძალიან მნიშვნელოვან პროდუქტს და შესაბამისად მათზე მოთხოვნაც ძალიან დიდია დღევანდელ სამომხმარებლო ბაზარზე. გამომდინარე იქიდან რომ გლობალურ სოფლის მეურნეობაში ძალიან დიდია ხილის ამ სახეობების დანაკარგი Fusarium გამოწვეული დაავადების გამო შერჩეულ იქნა ეს სამი მცენარე ატამი, ალუბალი და ქლიავი. გამოწვეული დაავადების გამო შერჩეულ იქნა ეს სამი მცენარე ატამი, ალუბალი და ქლიავი.

ატამში, ალუბალსა და ქლიავში Fusarium იწვევს ისეთ დაავადებებს როგორიცაა ფესვის, კვირტის და ნაყოფის ლპობა და ჭკნობა. არსებული მონაცემების მიხედვით სამივე მათგანში Fusarium–ით გამოწვეულ ინფექციებს ახასიათებს მსგავსი სიმპტომები. მცენარეების დაავადება ხდება მათი განვითარების ნებისმიერ სტადიაზე და ნებისმიერ

სეზონზე. ფესვების ღპობის დროს ატმის, ალუბლის და ქლიავის ფესვის ღპობის დროს თავდაპირველად მცენარეს არ აღნიშნება არავითარი სიმპტომები ხოლო დაავადების ბოლო სტადიაზე ფესვი ხდება მუქი ყავისფერი ან მოწითალო ფერის და მალევე ილუპება მცენარე. ადრეული გაზაფხულზე ინფიცირებულ მცენარეს აღარ უვითარდება კვრტები, ხოლო თუ ინფიცირება მოხდა კვრტების გამოსვლის შემდეგ მალევე ხდება მათი ფერის შეცვლა, ხდებიან უფრო მუქი შეფერილობის, აღარ ხდება მათი ზრდა და განვითარება და შემდეგ უკვე ცვივით კვრტები ანუ ხდება მათი ამპუტაცია. ჭკნობა ისევე როგორც სხვა მცენარეებში გამოწვეულია იმით,რომ აღარ ხდება მცენარის წყლით მიმარაგება, პათოგენის მოქმედებით ირღვევა ჭურჭლებით მცენარის წყლით მომარაგების სისტემა და აღარ მიეწოდება საკამრისი წყალი მცენარის ორგანოებს. აღნიშნულ მცენარეებში ჭკნობა უფრო ხშირად შეიმჩნევა გვიან გაზაფხულზე რაც გამოიხატება იმით რომ მცენარის ფოთლები ხდება ღია ყვითელი და შემდეგ მუქდება, ძირითადად ჭკნობა იწყება ფოთლის "ძარღვებით" და შემდეგ ჭკნება მთლიანი ფოთოლი და ცვივა. შესაბამისად ვეღარ მიმდინარეობს ფოტოსინთეზი და ხშირად ილუპება მცენარე. აღნიშნული დაავადებები ძალიან ხშირად გვხვდება მცენარეებში და იწვევს დიდ დანაკარგებს.(9,15)

თავი 2. კვლევის მეთოდები

2.1 Fusarium - ით ინფიცირებული მცენარეებიდან სოკოს სუფთა კულტურების მიღება და მშრალი საკვლევი მასის მიღება

კვლევის ობიექტს წარმოადგენდა პათოგენური სოკო Fusarium, შერჩეულ იქნა სამი აგრკულტურა ალუბალი, ატამი და ქლიავი, რომლებიც წარმოადგენენ ამ პათოგენის მასპინძელ ორგანიზმებს. ლაბორატორიულ პირობებში გავზარდეთ მათი დაავადებული ნერგები საიდანაც, სოკო გადავიდა ნიადაგში და ნიადაგიდან მოხდა სოკოს კულტურების მიღება.

დაავადებული ატმის, ალუბლის და ქლიავის ნერგებიდან სოკოს შტამების მიღებას ვახედნდით პეტრის ჯამებზე. დაავადებული მცენარის ნერგების ფესვებიდან და მასთან შეხებაში მყოფი ნიადაგიდან ავიღეთ 10 გრამი ნიადაგის ნიმუში და დისტილატონ ერთად დავსრისეთ სტერილურ როდინში, შემდეგ სუსპენზიის 1 მლ სტერილური პიპეტით გადავიტანეთ სინჯარაში რომელშიც წინასწარ იყო შეტანილი 9 მლ დისტილირებული წყალი. მიღებული განზავებიდან 1მლ იანი სტერილური პიპეტით ერთი წვეთი შეტანილ იქნა პეტრის ჯამებში. წინასწარ მომზადებული საკვები არის ცენტრში და დავამპატელეთ სტერილური შპატელით. საკვებ არეს წარმოადგენდა PDA (Potato Dextrose Agar), რომელიც დამზადებული იქნა ეტიკეტზე მითითებული კონცენტრაციების გამოყენებით, საჭირო რაოდენობის მიხედვით. თითოეული ნერგიდან მიღებული განზავება მოვათავსეთ 5–8 პეტრის ჯამზე საჭიროების მიხედვით. პეტრის ჯამები დავაყოვნეთ 5–7 დღე 20– 25°C. დაყოვნების შემდეგ მივიღეთ სოკოს მუქი ლურჯი და ძიწისფერი შტამები ძირითადად, ხოლო ზოგიერთ შემთხვევაში შტამები იყო მოვარდისფრო, ნარინჯისფერი ან თეთრი. მიღებული შტამებიდან სოკოს თხევად საკვებ არეზე გადათესვა და გამრავლება: თხევადი საკვები არეც ასევე მოვამზადეთ PDA საჭირო კონცენტრაციებით, 100 მლ–იან ქიმიურ ჭურჭელში გადაგვქონდა დაახლოებით 50 მლ, სტერილიზაცია ჩავატარეთ ავტოკლავში 20–30წთ–ის განმავლობაში და შემდეგ ასევე სტერილურ პირობებში წინასწარ მომზადებულ თხევად არეში გადავიტანეთ სამი პატარა ნაჭერი პეტრის ჯამებზე არსებული კულტურებიდან მარყუჟის საშუალებით. ერთი კვირის განმავლობაში დავაყოვნეთ ოთახის ტემპერატურაზე. ერთი კვირის შემდეგ მივიღეთ Fusarium–ის თხევადი კულტურები რომლებიც იყო სხვადასხვა ზომის და ინტენსივობის სახეობების

მიხედვით. შემდეგ ეტაპზე მიღებული თხევადი კულტურა გადაწურულ იქნა მემრანული ფილტრით და სოკოს მიცელიუმი სტერილური პინცეტით გადავიტანეთ ეპენდორფის სინჯარებში. შემდეგ წვრილი მარყუჟის საშუალებით გავხვრიტეთ სინჯარის თავსახური, რათა აორთქლებულიყო ზედმეტი სითხე და მიგვეღო მშრალი მასა. მიღებული მასა შევინახეთ მაცივარში -20°C ზე.

2.2 საკვლევი ნიმუშიდან დნმ-ის იზოლაცია

დნმ-ის გამოყოფა მოხდა ორმოცდაცხრამეტი კულტურული შტამიდან მიღებული საკვლევი ნიმუშიდან. ეპენდორფის სინჯარებში არსებული სოკოს ლიოფილიზებული მასიდან ვწონიდით 10–20 მკგ და გადაგვქონდა ახალ ეპენდორფის სინჯარებში. დნმ-ის ექსტრაქციას ვახდენდით შემდეგი სქემის

1. 10–20მკგ ლიოფილიზებული სოკოს საკვლევი მასალა გადატანილ იქნა ეპენდორფის სინჯარებში
2. დავამატეთ 600მკლ უჯრედის ლიზატი და შემდეგ შევანჯღრიეთ ვორტექსით
3. ერთი საათის განმავლობაში მოვათავსეთ წყლის აბაზანაში და ყოველ 10 წუთში ერთხელ ვანჯღრევდით ხელით
4. 200 მკლ Protein precipitation ხსნარი დავამატეთ და დავაყოვნეთ 20 წამი და შევანჯღრიეთ
5. დაყოვნება 15–20 წთ 0°C მაცივარში
6. ცენტრიფუგირება 3წთ 17000ბრ/წთ
7. სუპერნატანტი, ნალექზედა სითხე გადავიტანეთ ახალ ეპენდორფის სინჯარებში და ცენტრიფუგირება 2წთ 16900ბრ/წთ
8. სუპერნატანტი გადავიტანეთ ახალ სინჯარებში რომელშიც წინასწარ შეტანილ იქნა იზოპროპანოლი
9. ვორტექსზე ვანჯღრევთ 1 წთ
10. ცენტრიფუგირება 1წთ 16900ბრ/წთ
11. ეპენდორფის სინჯარებიდან მოვაშორეთ სუპერნატანტი და სინჯარაში დაგვრჩა დნმ-ი
12. დავამატეთ 600მკლ 70% იანი ეთანოლი
13. ცენტრიფუგირება 1 წთ 16900ბრ/წთ
14. სინჯარებიდან ამოვიღეთ სითხე და შევინახეთ მხოლოდ დნმ

15. დავამატეთ 100მკლ დნმ-ის ჰიდრატირებული ხსნარი და შევანჯღრიეთ ვორტექსით
16. დავაყოვნეთ 65°C 1 საათის განმავლობაში და მთელი ღამე ოთახის ტემპერატურაზე
17. შევინახეთ მაცივარში

2.3 სახეობა სპეციფიკური დნმ ფრაგმენტების ამპლიფიკაცია, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდით

Fusarium ის სახეობების იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებულ იქნა პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდით დნმის ფრაგმენტების ამფლიპიკაცია. შერჩეული იქნა გენეტიკური მარკერი 100 ფუძე წყვილის სიგრძის, რომელიც გამოყენებულია სხვა კვებებშიც. მიღებული დნმის ექსტრაქტის 1მკგ განვაზავეთ DEPC წყლით და ახალ მიკროსინჯარებში გადაიტანეთ 2 მკგ ნიმუში რასაც დავამატეთ 18მკგ წინასწარი მომზადებული ნარევი. რომელსაც დავამზადეთ შემდეგნაირად: 10x ბუფერი, MgCl₂ 50mM, 2.5 mM dNTPs, FEF და FER პარიმერები 54მკლ პლატინიუმის პოლიმერაზას შერევით. მიღებულ ნარევს მოვათავსეთ PCR თერმოციკლის აპარატში და რეაქცია მიდიოდა შემდეგი ტემპერატურების პირობებში. *Fusarium equiset* ისათვის ეს იყო 94°C - 3 წთ, 94°C - წთ, 50°C - 30 წმ, 72°C - 35წმ და 72°C - 7 წთ და ეს ციკლი მეორდებოდა 35 ჯერ. დაახლოებით საათ ნახევრის შემდეგ მივიღეთ პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის შედეგები და ამპლიფიცირებული დნმ-ის ფრაგმენტები და საჭირო იყო ვიზუალიზაცია საბოლოო შედეგების სანახავად.

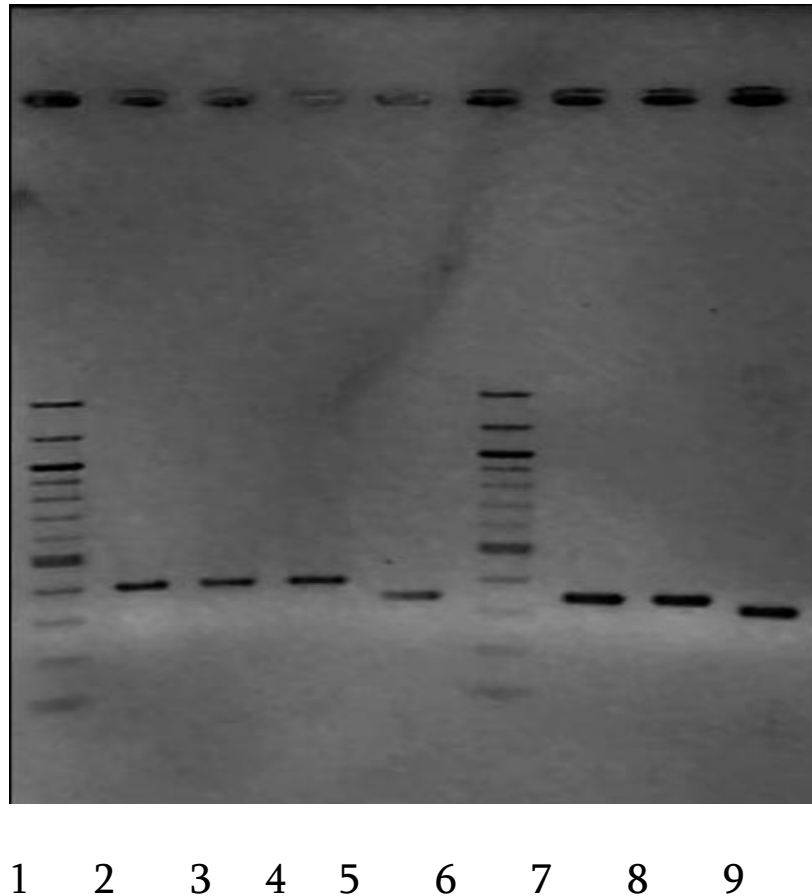
2.4 ელექტროფორეზი აგაროზას გელში

ელექტროფორეზი ჩატარეთ შემდეგნაირად: 40 მლ დისტილირებულ წყალში გავხსენით 0.4გ აგაროზა და მოვხარშეთ მიკროტალღურ ღუმელში. გაგრილებულ მასას ჩავასხით ელექტროფორეზის კამერაში და 20 წუთი დავაყოვნეთ მისი გამყარებისთვის. გამოვიყენეთ ე.წ. "ელექტროფორეზის სავარცხელი" ნიმუშების რაოდენობის მიხედვით. გამყარებულ გელს დავასხით ბუფერ და პიპეტით შევიტანეთ PCR შედეგი. პროტოკოლის მიხედვით პირველ ზოლში შეგვქონდა გენეტიკური მარკერი ჩვენს შემთხვევაში 100ფუძე წყვილის შესაბამისი. ხოლო 5მკლ ნიმუშს პიპეტით შევურიეთ 1მკლ ბრომფენოლის ლურჯი და შევიტანეთ გელის ზოლებში. პროტოკოლის მიხედვით ელექტროფორეზის ვოლტაჟი იყო 110 ვოლტი და მიმდინარეობდა 40 წუთის განმავლობაში. მიღებულ შედეგს შედებილ იქნა ეტიდიუმის ბრომიდიტ და ულტრაიისფერ სინათლეზე გადავუღეთ სურათი. ჩვენს მიერ ჩატარებულ მეთოდებში მივიღეთ ელექტროფორეზის სურათი.

თავი 3. მიღებული შედეგები

ატმის, ალუბლის და ქლიავის *Fusarium*-ით ინოკულირებული ნერგებიდან გამოყოფილი სუფთა კულტურებიდან შესწავლილ იქნა ორმოცდაცხრამეტი შტამი. გენეტიკურ დონეზე იდენტიფიცირებულ იქნა ამ სოკოს პათოგენური სახეობები, რომლებიც მრძნობიარე აღმოჩნდა ჩვენს მიერ გამოყენებული გენეტიკური მარკერების მიმართ. ოლიგონუკლეოტიდური პრაიმერების გამოყენებით, სახეობა სპეციფიკური დნმ ფრაგმენტების ამპლიფიკაციით, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდით. ელექტოფორეზით აგაროზას გელში გამოვლინეთ *Fusarium*-ის სამი პათოგენური სახეობ: *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*. გამოყენებული პრაიმერების მიხედვით უნდა ამპლიფიცირებულ იყვნენ შემდეგი ნუკლეოტიდური სიგრძის ფრაგმენტები: *F. equiseti* – 389 ფუძე წყვილი, *F. oxysporum* – 340 ფუძე წყვილი, და *F. avenaceum* – 314 ფუძე წყვილი. სურ.1 ზე პირველი და მეექვსე ხაზი შეესაბამება გენეტიკურ მარკერს, მეორე მესამე და მეოთხე *F. equiseti*-ს, მეხუთე, მეშვიდე და მერვე ხაზები შეესაბამება *F. oxysporum*-ს ხოლო მეცხრე ხაზი შეესაბამება *F. avenaceum*. ცხრილი 1 ში წარმოდგენილია აღნიშნული შედეგები და იდენტიფიცირებული სახეობების დნმ ფრაგმენტების სიგრძეები.

ატმის, ალუბლის და ქლიავის ინოკულირებული ნერგებიდან როგორც აღვნიშნეთ გამოყვავით *Fusarium* – ის კულტურული შტამები და შესწავლილ იქნა ორმოცდაცხრამეტი მათგანი. გარდა სახეობების იდენტიფიკაციისა და დადგენილ იქნა, რომ შესწავლილი შტამებიდან ორმოცდასამი იყო *F. equiseti*, 15 მათგანი იყო *F. oxysporum* ხოლო *F. avenaceum* წარმოდგენილი იყო მხოლოდ ერთი შტამით. პროცენტული მაჩვენებლის მიხედვით დადგენილ იქნა *F. equiseti* გავრცელების მაღალი სიხშირე 72.88% სხვა პათოგენურ სახეობებთან მიმართებაში. ცხრილ 2-ში წარმოდგენილია იდენტიფიცირებული *Fusarium* – ის სახეობების *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum* სიხშირეები.



სურ. 1. ელექტროფორეზის შედეგი 1–6 გენეტიკური მარკერი, 2–3–4 *Fusarium equiseti*, 5–7–8 *Fusarium equiseti*, 9 *Fusarium avenaceum*

1 – 6	გენეტიკური მარკერი	100 bp
2 – 3 – 4	<i>Fusarium equiseti</i>	398 bp
5 – 6 – 7	<i>Fusarium equiseti</i>	340 bp
9	<i>Fusarium avenaceum</i>	340 bp

ცხრილი 1. იდენტიფიცირებული *Fusarium*–ის სახეობები და მათი დნმ–ის ფრაგმენტების სიგრძეები.

სახეობა	რაოდენობა	სიხშირე %
<i>Fusarium equiseti</i>	43	72.88%
<i>Fusarium oxysporum</i>	15	25.42%
<i>Fusarium avenaceum</i>	1	1.69%
სულ	59	100%

ცხრილი 2. *Fusarium*- ის იდენტიფიცირებული სახეობების სიხშირეები

დასკვნა

დაავადებული ატმის, ალუბლის დაქლიავის წერგების წიადაგის ნიმუშებიდან გამოფილი და კულტივირებული იქნა *Fusarium*-ის პათოგენური სახეობები. მიღებული კულტურებიდან გენეტიკური მარკერების მეშვეობით განხორციელდა *Fusarium*-ის სახეობების იდენტიფიკაცია და დაავადებულ მცენარეთა ნიმუშებში გამოვლინდა *Fusarium*-ის შემდეგი სახეობები: *F. equiseti*, *F. oxysporum*, *F. avenaceum*. ასევე დადგენილ იქნა *Fusarium*-ის აღნიშნული შედეგების გავრცელების სიხშირე დაავადებულ მცენარეებში. აღნიშნული მეთოდით შესაძლებელია *Fusarium*-ის სახეობების იდენტიფიკაცია და პათოგენთა ბრძოლის შესაბამისი ღონისძიებების გატარება რაც შეამცირებს აგრიკულტურების დანაკარგებს და შესაბამისად ეკონომიკურ ზარალს.

გამოყენებული ლიტერატურა

1. Ana Alastruey- Izoquierdo, Manuel Cuenca-Estrella, Araceli Monzonm Emilia Mellado, JuanLuis Rodriguez- Tudela 2008. Antifungal suscepibility prfile clinical Fusarium spp. isolates identified by molecular methods. J. Antimicrob. Chemother (2008) 61 (4); 805-809.
2. B.A. Rubin, E.V. Arcikhovskaia 1968 biochemistry and Physiology system of immunology
3. Rubelle S.Goswami, Yanhong Dong, Zamir K. punja 2008 Host rang and mycotoxin production by Fusarium equiseti isolates originating from ginseng fields, Can.J. plant pathol. 155-160.
4. Edison Ncube, Bradley C. Flett, Cees Waalwijk, Altus Viljoen.2011.Fusarium spp. and level of fumonisins in maize produced by subsistence farmers in South Africa.S. Afr. sci. vol 107 no 1-2.
5. Department of crop sciences university of Illinois at Urbana- Champaing.1988. Fusarium wilt of watermelon and muskmelon RPD No. 904
6. Drenth A. and Sendall B. 2001. Practical guide to detection and identification of Phytophthora. CRC for Tropical Plant Protection: Brisbane, Australia.
7. Ellin Doyle Ph.D., 1997 Fusarium Mycotoxins Food Research Institute, UW-Madison
8. H. Loiveke 2004.Fusarium spp. on several field crops and toxicity of Fusarium isolates. Estonian Research Institute of Agriculture, Teaduse 13, EE75501 Saku, Harjumaa, Estonia.
9. John W. 1923 Roberts A Budort of the peach caused by a species of Fusarium. Journal of Agricultural Research. vol. 24 no 10
10. L. kanchaveli. 1978. General Phytopathology. Tbilisi
11. M.K. EL-Kazzaz, G.B. EL- Fadly, M.A.A. Hassan, G.A.N. EL- Kot 2008 Identification of some Fusarium spp.using Molecular Biology Techniques. Egypt. J. Phytopathol., Vol. 36, No.1-2, pp. 57-69
12. Paule. Nelson, Cecilia Dignani, Elias J Anaissie.1994. Taxonomy, Biology, and Clinical Aspects of Fusarium Speciest.Clinical microbiology rewiews p.479-550 CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS, OCT. 1994, p. 479-50 U.S.A.
13. Prashant K. Mishra, Roland T.V. Fox, Alastair Culham. 2002. Development of a PCR- based assay for rapie and reliable identiffication of pathogenic Fusaria
14. Ronald Schothorst, Walter Paulsch. 2003. Collection of occurrence data of Fusarium toxin in food and assessment of dietary itake by the population of EU member states. Report experts participating in task 3.2.10.

15. Vijai Kumar, Ashok Kumar Mirsa, Rajarshi Kumar 2010. Growth Characteristics of *Fusarium* spp. Causing wilt disease in *Psidium guajava* L. in India. *Journal of plant protection research* vol. 50. no. 4
16. W. M. Hagler, C.J. Mirocha, S.V. Pathere 1981. Biosynthesis of Radiolabeled T-2 Toxin by *Fusarium tricinctum*. *Applied and environmental microbiology*, Apr 1981, p 1049- 1051. vol. 41, no.4 University of Minnesota, St. Paul, Minnesota
17. <http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium>
18. <http://en.wikipedia.org/wiki/Mycotoxin>
19. http://en.wikipedia.org/wiki/Fusarium_oxysporum