

სსიპ „ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო

უნივერსიტეტი“

საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა და ჯანდაცვის ფაკულტეტი

ბიოლოგიის დეპარტამენტი

მაკა მურადაშვილი

საქართველოში გავრცელებული *Ralstonia*-ს გვარის

ფიტოპათოგენური ბაქტერიების ბიომრავალფეროვნება და

პათოგენური პოტენციალი

(წარდგენილი: ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად)

სპეციალობა: მიკრობიოლოგია

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

1. მარინე თედიაშვილი, ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი;
ასოცირებული პროფესორი
2. გალინა მეფარიშვილი, ბიოლოგიის აკადემიური დოქტორი

შინაარსი

შესავალი -----	5
აბრევიატურების ჩამონათვალი-----	9
თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა -----	10
1.1. მცენარეთა ბაქტერიული დაავადებების ისტორია -----	10
1.2. <i>Ralstonia solanacearum</i> -ით გამოწვეული მასპინძელ მცენარეების დაავადებების სიმპტომების აღწერა -----	11
1.2.1. კარტოფილის მურა სიდამპლე -----	11
1.2.2. პომიდორის ბაქტერიული ჭკნობა -----	12
1.2.3. წიწაკის ბაქტერიული ჭკნობა -----	12
1.3. <i>Ralstonia solanacearum</i> -ის ბიოლოგია -----	13
1.3.1. ფენოტიპური დახასიათება -----	13
1.3.2. <i>R. solanacearum</i> - ის გენომის დახასიათება -----	16
1.3.3. პათოგენობის განმსაზღვრელი გენები და ფაქტორები -----	19
1.4. <i>Ralstonia solanacearum</i> -ის კლასიფიკაცია და მრავალფეროვნება -----	21
1.5. მასპინძელი მცენარეები და გეოგრაფიული გავრცელება -----	26
1.6. ბაქტერიოფაგები -----	29
1.6.1. ბაქტერიოფაგების აღმოჩენა და გავრცელება -----	29
1.6.2. ბაქტერიოფაგების კლასიფიკაცია; ბაქტერიოფაგების მორფოლოგია და ფიზიოლოგია, განვითარების სასიცოცხლო ციკლი -----	29
1.6.3. ფიტოპათოგენური ბაქტერიების ფაგები და მათი პრაქტიკული მნიშვნელობა -----	31
1.7. ფიტონციდების და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების გამოყენება <i>R. solanacearum</i> გამოწვეულ მცენარეთა ბაქტერიული დაავადების წინააღმდეგ -----	35
თავი 2. მასალები და მეთოდები -----	38
2.1. კვლევის ობიექტი -----	38
2.2. კვლევის ჩატარების ადგილი და პირობები -----	39
2.3. კვლევის პროცესში გამოყენებული საკვები ნიადაგები და ძირითადი	

რეაქტივები -----	39
მეთოდები	42
2.4. <i>R. solanacearum</i> - ით გამოწვეული ბაქტერიული სიდამპლის გავრცელების ინტენსივობის და არეალის დადგენა -----	42
2.5. <i>R. solanacearum</i> - ით გამოყოფა და იდენტიფიკაცია -----	42
2.5.1. <i>R. solanacearum</i> - ის იდენტიფიკაცია იმუნოდიაგნოსტიკური ტესტის გამოყენებით -----	43
2.5.2. <i>R. solanacearum</i> - ის იდენტიფიცირება კლასიკური მიკრობიოლოგიური მეთოდებით -----	44
2.5.3. ჰიპერმგრძნობელობითი რეაქცია -----	44
2.6. <i>R. solanacearum</i> - ის ბიოქიმიური მახასიათებლების შესწავლა-----	45
2.6. 1. ბიოვარების და რასების დადგენა-----	46
2.7. <i>R. solanacearum</i> - ის პათოგენობის შესწავლა -----	47
2.8. <i>R. solanacearum</i> - ის ქართული იზოლატების შენახვა სხვადასხვა მეთოდით -----	48
2.9. <i>R. solanacearum</i> - ის ქართული იზოლატების გენეტიკური იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებული მოლეკულური კვლევის მეთოდები--	49
2.9.1. <i>R. solanacearum</i> - ის ქართული იზოლატების იდენტიფიკაცია პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მეთოდით -----	49
2.9.2. <i>R. solanacearum</i> - ის ქართული იზოლატების იდენტიფიკაცია რელური დროის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (Real-time PCR) TaqMan® მეთოდით -----	51
2.10. სექვენირებაზე დაფუძნებული მეთოდები -----	55
2.10.1. ენდოგლუკონაზა გენის სექვენირება -----	56
2.10.2 <i>R. solanacearum</i> - ის სრული გენომის სექვენირება-----	58
2.11. ბაქტერიოფაგები-----	60
2.11.1. ბაქტერიული ვირუსების გამოყოფის, გამრავლების და კონცენტრი-	

რების, ბაქტერიოფაგების ბიოლოგიური თვისებების შესწავლის მეთოდები -----	60
2.12 მცენარეთა ექსტრატების ანტიმიკრობული მგრძობელობის განსაზღვრა -----	62
2.13. ექსპერიმენტული მონაცემების სტატისტიკურად დამუშავება-----	63
თავი 3. შედეგები	64
3.1. <i>Ralstonia solanacearum</i> - ით გამოწვეული მცენარეთა ბაქტერიული დაავადებების გავრცელება საქართველოში-----	64
3.2. დაავადებულ მცენარეთა შეგროვილი ნიმუშების შესწავლის შედეგები---	72
3.3. პათოგენის გამოყოფა და იდენტიფიკაცია-----	74
3.3.1. <i>Ralstonia solanacearum</i> - ის კულტივირება და იდენტიფიცირება სტანდარტული მიკრობიოლოგიური მეთოდით-----	75
3.3.2. ჰიპერმგრძობელობითი რეაქცია-----	76
3.3.3. <i>Ralstonia solanacearum</i> -ის ქართული შტამების იდენტიფიცირება ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით-----	77
3.3.4. <i>R. solanacearum</i> -ის შტამების ფენოტიპური იდენტიფიკაცია-----	78
3.4. პათოგენობის ტესტის შედეგები-----	89
3.5. <i>R. solanacearum</i> -ის ქართული იზოლატების იდენტიფიცირება პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მეთოდით-----	96
3.6. <i>R. solanacearum</i> - ის ქართული იზოლატების ენდოგლუკონაზა (Egl) გენის სექვენირება-----	99
3.7. სპეციფიური ბაქტერიოფაგების მგრძობელობის შესწავლა <i>R.</i> <i>solanacearum</i> -ის ქართული იზოლატების მიმართ-----	117
3.8. აჭარის ზღვისპირეთის ფლორის მერქნიანი სახეობების ანტიბაქტერიული აქტივობის შესწავლა <i>R. solanacearum</i> -ის მიმართ -----	124
დასკვნები -----	128
ციტირებული ლიტერატურა -----	131
დანართები -----	153

შესავალი

თემის აქტუალობა: მრავალი ისტორიული ფაქტი მოწმობს, რომ სასურსათო კრიზისი ხშირ შემთხვევაში გამოწვეული იყო მცენარეთა დაავადებების ეპიდემიებით, რომელთა დროსაც იყო შიმშილობა, სიკვდილიანობა და მილიონობით ადამიანის მიერ საკუთარი საცხოვრებელი ადგილის შეცვლა. უსაფრთხო და ხარისხიანი სასურსათო პროდუქცია, როგორც უმნიშვნელოვანესი სოციალურ-პოლიტიკური ფაქტორი, შეიძლება განვიხილოთ, როგორც მოსახლეობის სურსათზე მოთხოვნილების დაკმაყოფილების აუცილებელი გარანტია.

დღეს, მიმდინარე გლობალიზაციის პირობებში არსებობს დიდი საფრთხე იმისა, რომ, ზოგიერთი მაღალი მავნეობით გამორჩეული პათოგენის გავრცელებამ ფართო მასშტაბები მიიღოს და მოერგოს განსხვავებულ ეკოლოგიურ პირობებს მრავალ რეგიონში. ეს კი განსაკუთრებით საშიში იქნება განვითარებადი ქვეყნებისთვის, სადაც სასურსათო უსაფრთხოების გარანტიები ნაკლებად არის დაცული.

ზოგადად, სტრატეგიულ კულტურულ მცენარეთა დაავადებებთან ბრძოლა მსოფლიო მნიშვნელობის პრობლემაა, განსაკუთრებით როცა დაავადება მასშტაბურ ხასიათს იღებს და ქვეყანას მნიშვნელოვან ეკონომიკურ ზარალს აყენებს. ჩვენი ქვეყნისთვის მნიშვნელოვან კულტურებად ითვლება ძალღყურძენისებრთა ოჯახის მცენარეები - კარტოფილი, პომიდორი, ბადრიჯანი და წიწაკა.

არსებული მონაცემებით, ძალღყურძენისებრთა ოჯახის მცენარეების დაავადებებს შორის ერთ-ერთ ეკონომიკურად მნიშვნელოვან დაავადებას წარმოადგენს ბაქტერიული სიდამპლე, რომლის გამომწვევია გრამ-უარყოფითი, ნიადაგის ბაქტერია - *Ralstonia solanacearum*. იგი აავადებს მცენარეთა სახეობების უჩვეულოდ ფართო სპექტრს და ყველაზე მეტად აზიანებს ეკონომიკურად მნიშვნელოვან კულტურებს, როგორცაა: კარტოფილი, პომიდორი, თამბაქო. პათოგენი მცენარეს აინფიცირებს ფესვების გავლით, ახასიათებს ინტენსიური გამრავლება და ძლიერი ტროპიზმი მასპინძელი ორგანიზმის სპეციფიკური ქსოვილების მიმართ (Yao... 2006).

R. solanacearum ხასიათდება დიდი მრავალფეროვნებით. დაჯგუფებულია ოთხ დიდ ფილოტიპურ ჯგუფად (ფილოტიპად), 5 რასად და 5 ბიოვარად. *Ralstonia* -ს

გვარის სახეობათა კომპლექსიდან ყველაზე მაღალი მავნეობით გამოირჩევა რასა 3 ბიოვარი 2, რომელიც იწვევს კარტოფილის მურა სიდამპლეს. ეს რასა ფართოდაა გავრცელებული დაახლოებით 80 ქვეყანაში. ზარალი ყოველ წელს 950 მილიონ დოლარს შეადგენს (Floyd, 2007). მრავალ ქვეყანაში (დიდი ბრიტანეთი, ნიდერლანდები, შვედეთი და სხვა) ის საკარანტინო ობიექტია და შეტანილია ევროპის მცენარეთა პათოლოგიის ორგანიზაციის (EPPO) ე.წ. A2 ნუსხაში, როგორც შეზღუდულად გავრცელებული საკარანტინო ობიექტი (EPPO, Bulletin, 2004). ეს პათოგენი შესულია აგრეთვე აგროკულტურათა ბიოტერორიზმის აგენტთა სიაში (Directive 2000/29/EC of 8 May 2000). საქართველოს სოფლის მეურნეობის მინისტრის #2-13 2006 წლის 31 იანვრის ბრძანების მიხედვით *R. solanacearum* შესული იყო საქართველოს მცენარეთა არარეგისტრირებულ საკარანტინო ობიექტების ნუსხაში, ხოლო ჩვენს მიერ განხორციელებული კვლევების შემდეგ *R. solanacearum* შეზღუდულად გავრცელებულ, საკარანტინო კატეგორიის პათოგენს წარმოადგენს. ამდენად, ეს თემა მეტად აქტუალურია, რადგან პათოგენის გავრცელების არეალი და ქართული პოპულაციის ბიოლოგია დღემდე არ იყო შესწავლილი.

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე: საქართველოში ჩვენს მიერ პირველად იქნა აღრიცხული ამ დაავადების რამდენიმე შემთხვევა, როგორც კარტოფილზე, ისე პომიდორზე. 2010–2011 წლებში საერთაშორისო სამეცნიერო ტექნიკური ცენტრის (ISTC) საპარტნიორო პროექტის G-1775p ფარგლებში განხორციელებულმა კვლევებმა საშუალება მოგვცა გამოგვევლინა მურა სიდამპლის შემთხვევები კარტოფილის სხვადასხვა ჯიშებზე: ჯელი, მარფონა, პიკასო, ფინკა, აგრია, ალიანსი, მარაბელი (Muradashvili... 2014). გარდა ამისა, იმავე პროექტის ფარგლებში ჩატარებული მცენარეთა ჯანმრთელობის კლინიკების შექმნისას ჩხოროწყუსა და ქუთაისში გამოვავლინეთ ბაქტერიული ჭკნობით დაავადებული პომიდვრის ნიმუშები. დაავადების დიაგნოსტიკა საველე პირობებში მოვახდინეთ იმუნოდიაგოსტიკური ტესტების გამოყენებით. მიღებული შედეგები დადასტურდა ინფიცირებული ნიმუშების შემდგომი ლაბორატორიული კვლევის საფუძველზე (Mepharishvili... 2012). გარდა ამისა, 2012-2013 წლებში ქობულეთში, ჩხოროწყუსა და ქუთაისში, ასევე გორისა და ბორჯომის რაიონში განხორციელებული კვლევების შედეგად გამოვლინდა, რომ

საქართველოში გავრცელებული *R. solanacearum* - ის მასპინძელი მცენარეები არიან ძალყურძენასებრთა ოჯახის წარმომადგენლები (კარტოფილი, პომიდორი, ბულგარული წიწაკა, ბადრიჯანი).

კვლევის მიზანი: ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა გამოგვევლინა საქართველოში *R. solanacearum* - ის მიერ გამოწვეული მცენარეთა ბაქტერიული დაავადების შემთხვევები, შეგვესწავლა სამიზნე ფიტოპათოგენის ბიოლოგია და მისი გავრცელების ინტენსივობა, დაგვედგინა ჩვენს ქვეყანაში გავრცელებული პოპულაციის რასა და ბიოვარი, მოგვეხდინა გამომწვევის ქართული პოპულაციის სუბტიპირება სპეციფიკური ფაგებისადმი მგრძობელობის საფუძველზე (ფაგოტიპირება), აგრეთვე განგვესაზღვრა ცალკეული მცენარეული ანტიმიკრობული ნივთიერებების მოქმედება *R. solanacearum*-ის იზოლატებზე. მიღებული შედეგები და დაგროვილი ცოდნა მნიშვნელოვან საფუძველს შექმნის ბრძოლის უსაფრთხო, ბიოლოგიური მეთოდების შემუშავებისათვის.

დასახული მიზნის განსახორციელებლად შევასრულეთ შემდეგი ამოცანები:

1. გამოვიკვლიეთ საქართველოს სხვადასხვა გეოგრაფიულ ზონაში *Ralstonia solanacearum*-ის მასპინძელი მცენარეების არსებული ნარგაობები. დავადგინეთ ამ ფიტოპათოგენი ბაქტერიის გავრცელების არეალი;
2. შევავროვეთ დაავადებული ნიმუშები, მცენარეთა განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე როგორც მინდვრის, ისე საცავების პირობებში (კარტოფილის შემთხვევაში);
3. მოვახდინეთ დაავადების გამომწვევი მიკროორგანიზმის გამოყოფა და იდენტიფიცირება;
4. შევისწავლეთ საქართველოში გავრცელებული პოპულაციის ბიოლოგიური თვისებების თავისებურებები და გამოვავლინეთ რასა, ბიოვარი და ფილოტიპური ჯგუფები.
5. შევისწავლეთ *R. solanacearum*-ის ადგილობრივი შტამების მგრძობელობა სპეციფიკური ბაქტერიოფაგებისა და ანტიმიკრობული აქტივობის მქონე მცენარეთა ექსტრაქტების მიმართ.

გამოყენებული მეთოდები: აღნიშნული ამოცანების განსახორციელებლად

გამოვიყენეთ მიკრობიოლოგიური კვლევის სტანდარტული მეთოდები, როგორცაა (ბაქტერიათა კულტივირება (Kelman 1954) და ბიოქიმიური ტესტირება (მათ შორის საიდენტიფიკაციო ბიოქიმიური ტესტების ჩათვლით (Suslow... 1982; Hossain... 2007; Schaad, 1980; Hayward, 1964). ასევე გამოყენებულ იქნა მოლეკულური ბიოლოგიის თანამედროვე მეთოდები, კერძოდ, გენეტიკური იდენტიფიკაცია სპეციფიკური და რეალური დროის პჯრ მეთოდით (Pastrik... 2000; Weller... 2000); ერთეული გენისა და სრული გენომის სექვენირება (Fegan and Prior 2006).

მატერიალურ - ტექნიკური ბაზა: წარმოდგენილი კვლევები შესრულებული იყო ბათუმის შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ფიტოპათოლოგიისა და ბიომრავალფეროვნების ინსტიტუტში, ასევე ნაწილი განვახორციელეთ თბილისის გიორგი ელიავას სახ. ვირუსოლოგიის, მიკრობიოლოგიისა და ბაქტერიოფაგის ინსტიტუტის მიკრობული ეკოლოგიის ლაბორატორიაში შოთა რუსთაველის ეროვნული-სამეცნიერო ფონდის (შრესფ) მიერ დაფინანსებული ერთობლივი პროექტის #FR/460/10-101/14 „კარტოფილის საკარანტინო დაავადების - მურა სიდამპლის შესწავლა და მასთან ბრძოლის ეფექტური ღონისძიებების შემუშავება“ ფარგლებში. *R. solanacearum*-ის ქართული შტამების სრული გენომის სექვენირებასთან დაკავშირებული კვლევები შევასრულეთ ლ. საყვარელიძის სახელობის დაავადებათა კონტროლისა და საზოგადოებრივი ჯანმრთელობის ეროვნული ცენტრთან არსებულ ლუგარის ცენტრში. აშშ-ს სამოქალაქო კვლევებისა და განვითარების ფონდის (CRDF Global, სკგფ), შრესფ-ის და საქართველოს სამეცნიერო-ტექნოლოგიური განვითარების ფონდის (სსგფ) მიერ დაფინანსებული პროექტის (#04/48 „მცენარეთა საკარანტინო ბაქტერიული პათოგენის *Ralstonia solanacearum* - ის ქართული შტამების სრული გენომის გაშიფვრა“) ფარგლებში. გარდა ამისა, წარმოდგენილი კვლევის ნაწილი შესრულებული იქნა დიდი ბრიტანეთის სურსათისა და გარემოს კვლევის სააგენტოს (FERA, UK), მოლეკულური ბიოლოგიის ლაბორატორიაში (დოქტორ რიჩარდ ტვეიტის ხელმძღვანელობით).

აბრევიატურის ჩამონათვალი:

1. **Spp**, გვარში გაერთიანებული სახეობები (Several Species);
2. **bp**, ნუკლეოტიდურ ფუძეთა წყვილის წონა (base pair);
3. **pfu/ml**, ფაგური ნაწილაკების რაოდენობა 1 მილილიტრში(ml).
(plaque forming unit);
4. **PCR**, პოლიმერაზა ჯაჭვური რეაქცია (Polymerase Chain Reaction);
5. **EPPO**, ევროპის მცენარეთა პათოლოგიის ორგანიზაცია (European Plant Protection organization)
6. **PC**, ფენოტიპური კონვენსია (Penotypic conveyce)
7. **EPS**, ეგზოპოლისაქარიდები (Exopolysaccharide)
8. **Mb**, ნუკლეოტიდური ფრაგმენტების წონა (Megabase)
9. **Kb**, ნუკლეოტიდური ფრაგმენტების წონა (Kilobase)
10. **HR**, ჰიპერმგრძობელობითი რეაქცია (Hypersensitivity reaction)
11. **T3SS** , ტიპი III სეკრეციის სისტემა (Type three secretion system)
12. **T2SS**, ტიპი ორი სეკრეციის სისტემის (Type two secretion system)
13. **Egl**, ენდოგლუკონაზა გენი (Endoglukonase gene)
14. **β -1,4- CbhA**, ცელობიოჰიდროლაზა (Celobiohidrolaza)
15. **ICTV** - ვირუსების ტაქსონომიის საერთაშორისო კომიტეტი (International Committee on Taxonomy of Viruses)
16. **CPG**, კაზეინპეპტონიანი არე (Casein peptone, Glucose agar medium);
17. **TTC** - ტეტრაზოლიუმის ტრიფენილტიტრაზოლიუმის კლორიდი (Triphenyltetrazolium Chloride);
18. **NCPPB** - მცენარეთა პათოგენების ნაციონალური კოლექცია National Collection of plant pathgenic Bacteria
19. **UPGMA** - კლასტერული ანალიზის მეთოდი, Unweighted Pair Group Method with.

თავი I. ლიტერატურული მიმოხილვა

1.1. მცენარეთა ბაქტერიული დაავადებების ისტორია

დღესდღეობით ცნობილია კულტურულ მცენარეთა რამდენიმე ათეულ ათასი დაავადება (Agrios, 2005). მცენარე შეიძლება დაზიანდეს აბიოტური ფაქტორებით და პათოგენების ზეგავლენით. მცენარეთა ინფიცირება და დაავადებები შეიძლება გამოწვეული იყოს ვირუსებით, პროკარიოტებით, სოკოებით, პროტოზოებით, ნემატოდებით და პარაზიტი მცენარეებით.

მცენარეთა ბაქტერიულ დაავადებებს შორის პირველად ახალ ზელანდიაში 1919 წელს აღწერილი იქნა ხეხილოვნების სიდამწვრე - (fire blight of pomaceous fruit trees), რომელიც გამოწვეული იყო ბაქტერია *Erwinia amylovora* - ს მიერ (Glawe, 1992; Agrios, 2005). XIX საუკუნის ბოლოს ამ დაავადებამ გამოიწვია მნიშვნელოვანი ეკონომიკური ზარალი. მრავალი ევროპელი მეცნიერი, ალფრედ ფიშერის ლიდერობით მიიჩნევდა რომ ბაქტერია იყო დაავადების მიზეზობრივი აგენტი, ხოლო მცენარეთა დაზიანება პროვოცირებული იყო მეორეული აგენტის - პათოგენური სოკოების მიერ (Paulin... 2001).

პირველი ცნობები *R. solanacearum* -ით გამოწვეული ბაქტერიული დაავადების შესახებ მოპოვებული იყო 1880 წელს აზიაში და სამხრეთ ამერიკაში. სმიტმა 1896 წელს აღწერა ბაქტერიული სიდამპლის გამომწვევი მიკროორგანიზმი. 1950 წელს კი, კელმანმა მოახდინა არსებული ინფორმაციის თავმოყრა და შეჯამება. მან ჩრდილოეთ კაროლინის შემოგარენში გავრცელებულ ბაქტერიული სიდამპლით დაავადებული მცენარეებიდან გამოყო *R. solanacearum*-ის შტამი - K60, კელმანი ლუის სექვოიასთან ერთად მიჩნეულია პიონერად ბაქტერიული სიდამპლის გამომწვევ მიკროორგანიზმის ბიოლოგიის სხვადასხვა ასპექტების კვლევის მიმართულებით. კელმანი და მისი სტუდენტები იკვლევდნენ ეგზობოლისაქარიდების როლს *R. solanacearum* - ის ვირულენტური ბუნების განსაზღვრაში (Denny, 2005). ბუდენჰანის (1962) კვლევა, ეძღვნებოდა ბაქტერიული სიდამპლის (რომელიც აზიანებდა ბანანის პლანტაციებს) მიმართ კონტროლის მართვის მექანიზმებს. ცენტრალურ ამერიკაში ბაქტერიული სიდამპლე მიჩნეულ იქნა მნიშვნელოვანი ზარალის მომტან კომპლექსური დაავადებად (Buddenhagen... 1962). შემდგომში პათოგენის

მრავალფეროვნება შესწავლილი იქნა მისი მასპინძელ მცენარეთა ფართო დიაპაზონის და ცვალებადი ფენოტიპური და გენეტიკური მახასიათებლების მეშვეობით (Buddenhagan and Kelman, 1964); (Hayward, 1994); (Cook...1989); (Prior... 2005). 1970 წლიდან კვლევები უფრო მეტად ორიენტირებული იყო ბაქტერიების გენეტიკაზე. ბოუჩერმა და მისმა გუნდმა შეიმუშავეს *R. solanacearum* - ის მუტაგენეზის პროტოკოლი და პირველებმა გამოიკვლიეს *hrpB* მუტანტები (*hrp* გენის კლასტერი პასუხისმგებელია არამასპინძლის მიმართ ჰიპერმგრძობლობით რაქციაზე). მრავალი მეცნიერი იკვლევდა *R. solanacearum* -ის ვირულენტურ მექანიზმებს (Boucher... 1992); (Denny 2000); (Schell 2000); (Denny 2005). არც თუ ისე დიდი ხნის წინ დასრულდა GMI1000 შტამის დნმ - ის სრული თანმიმდევრობის გაშიფვრა (Salanoubat ... 2002), რომელიც ბაქტერიის გენომის ფუნქციების დეტალური შესწავლის შესაძლებლობას იძლევა (Genin and Boucher 2004); (Genin... 2005).

1.2. *Ralstonia solanacearum* -ით გამოწვეული დაავადებების სიმპტომების აღწერა მასპინძელ მცენარეებზე

1.2.1. კარტოფილის მურა სიდამპლე

კარტოფილის ბაქტერიული დაავადება, რომელსაც იწვევს ნიადაგის ბაქტერია *R. solanacearum*, ცნობილია მურა სიდამპლის სახელით. დაავადება შეიძლება მცენარის ზრდის ნებისმიერ ფაზაში გამოვლინდეს, განსაკუთრებით საშიშია ის ახალგაზრდა ნარგავებში, რადგან ფოთლების ჭკნობა და ყლორტების ჩამოცვენა ზოგჯერ მცენარის დაღუპვასაც იწვევს, რასაც მიყვავართ მოსავლის სერიოზულ დანაკარგამდე (Champoiseau... 2008).

მოსალოდნელია დაავადებამ მიიღოს პანდემიური ხასიითი და გამოიწვიოს მოსავლიანობის დაქვეითება 30-დან 70%-მდე (Belen... 2010). ზარალის სიდიდე დამოკიდებულია კარტოფილის ჯიშზე, გავრცელების მაშტაბებსა და კულტურის წარმოების პირობებზე. მგრძობიარე ჯიშებში პათოგენი იწვევს ზრდის

შენელებას, ფოთლების გაყვითლებას და ჭკნობას. კარტოფილის დაზიანებულ გორგლებში ტუბერების გამტარი რგოლის გასწვრივ გროვდება მონაცრისფრო - თეთრი ბაქტერიული ექსუდატი. ცნობილია აგრეთვე კარტოფილის მურა სიდამპლის განვითარების უსიმპტომო ანუ ლატენტური ფორმა, განსაკუთრებით ეს ხდება დაბალი ტემპერატურის პირობებში. პათოგენის ეს ფორმა სიცოცხლისუნარიანობას ინარჩუნებს შენახვისა და დიდ მანძილზე ტრანსპორტირების დროსაც და შეუძლია გამოიწვიოს დაავადება ახალ, ხელსაყრელ გარემო პირობებში მოხვედრისას.

1.2.2. პომიდვრის ბაქტერიული ჭკნობა

ფიტოპათოგენი *Ralstonia solanacearum* იწვევს აგრეთვე პომიდვრის ბაქტერიულ ჭკნობას, რაც შეიძლება მცენარის ზრდის ნებისმიერ ფაზაში გამოვლინდეს (2004 OEPP/ EPPO) და ხშირად აავადებს ღია გრუნტში მოზარდე მცენარეს. ბაქტერია ინახება ნიადაგში და მცენარეულ ნარჩენებში. მცენარეში შეღწევა ხდება ფესვების მექანიკური დაზიანებებისას და მორწყვის დროს.

დაავადების სიმპტომებია ღეროს ცენტრალურ ნაწილის ლპობა, ფოთლების მიერ ტურგორის დაკარგვა, მათი გაყვითლება და ცვენა. დაავადებული პომიდვრის ღეროს გამტარი ქსოვილი იღებს მუქ შეფერილობას, სადაც აღინიშნება ბაქტერიული ექსუდატი. დაავადებულ მცენარეებს ხშირად უვითარდებათ მიწისზედა ფესვები. ხდება ჭურჭლოვანი სისტემის გახევება, რის შედეგადაც ირღვევა მცენარის წყლით მომარაგების პროცესი (Robert, 2010).

1.2.3. წიწაკის ბაქტერიული ჭკნობა

ფიტოპათოგენი *R. solanacearum* იწვევს წიწაკის ბაქტერიული ჭკნობასაც. ბაქტერია მცენარეში ხვდება ფესვის დაზიანებული უბნების საშუალებით. როგორც ზემოთაც აღვნიშნეთ, პათოგენს შეუძლია გადაადგილდეს გამტარ ქსოვილში და დააზიანოს მცენარე. ეს დაზიანებები ფესვს შეიძლება გაუჩნდეს

ნემატოდების მოქმედების შედეგად, ჩითილის გადარგვისას და ნიადაგის კულტივაციისას (Elphinstone et al., 1998, Janse et al., 1998; Farag et al., 1999; Wenneker et al., 1999).

დაავადების სიმპტომები: დაავადების განვითარებისათვის ხელსაყრელი კლიმატური პირობების არსებობის შემთხვევაში მცენარე შესაძლოა დაიღუპოს უმოკლეს ვადებში – რამდენიმე დღეში. ამ პერიოდში მცენარეს რაიმე სახის წინასწარი სიმპტომები არ აქვს. ის შეიძლება, სრულიად საღად გამოიყურებოდეს ან, აღენიშნებოდეს სუსტი შეყვითლება. ზომიერი კლიმატის ზონებში დაავადებულ მცენარეებზე შეინიშნება დროში გახანგრძლივებული, თანდათანობითი ჭკნობის პროცესი, რის დროსაც მცენარეები იღებენ ყვითელ შეფერილობას. დაზიანებული მცენარის ღეროს ქვემო მხარეს ხდება მისი გამტარი ჭურჭლების გამუქება, რაც ვრცელდება ფესვების ქსოვილებსა და გულგულში. დაზიანებული მცენარის ღეროს მოჭრის და მისი წყალში მოთავსების შედეგად ღეროს გადანაჭერიდან შეინიშნება რძისფერი გამონადენი (Tim ... 2000).

1.3 . *Ralstonia solanacearum*-ის ბიოლოგია

1.3.1. ფენოტიპური დახასიათება

R. solanacearum - ის ცალკეული უჯრედები პატარა ზომისაა, მომრგვალებული ბოლოებით. საშუალო ზომა - 0.5 -0.7 დან 1.5- 2.5 მკმ-მდეა (Denny... 2001). უჯრედის კედლის სტრუქტურის მიხედვით, მიეკუთვნება გრამ უარყოფით ბაქტერიებს, წინამდებარე პოლარული შოლტით. ბაქტერიას ახასიათებს აერობულ გარემოში ჟანგვითი მეტაბოლიზმის უნარი და ზოგადად ითვლება მკაცრ აერობად. თუმცა, ზოგიერთ შემთხვევაში, მას შეუძლია შეზღუდული, ნელი ზრდა, როცა უჯრედები არ არიან პირდაპირ კონტაქტში ჰაერთან (Kelman... 1951). *R. solanacearum* აწარმოებს პოლი-β-ჰიდროქსიბუტირატის გრანულებს, როგორც უჯრედების ენერგეტიკულ რეზერვს. რაც შეეხება ზრდა - განვითარებისაგის საჭირო ტემპერატურას, მთელი მსოფლიოს ტროპიკულ რაიონებში გავრცელებული *R. solanacearum*-ის შტამებს აქვს ზრდის მაღალი ტემპერატურა (35°C), ხოლო იმ

შტამებს, რომლებიც, გავრცელებულია მაღალ მთიან და ზომიერი რაიონებში, ზრდის დაბალი ტემპერატურა ახასიათებთ (27 ° C). *R. solanacearum* არ იზრდება 40 ° C -სა და 4 ° C - ზე. ზრდის მინიმალური და მაქსიმალური ტემპერატურული ზღვარია შესაბამისად 8-10 ° C და 37-39 ° C. რაც შეეხება pH -თან დამოკიდებულებას, როგორც ბაქტერიების უმეტესობა, *R. solanacearum* -ის ზრდას ხელს უშლის მჟავა გარემო, ხოლო კარგად იზრდება ტუტე პირობებში. ცნობილია, რომ *R. solanacearum* -ის კულტურა შეიძლება მივიღოთ 1% NaCl-ის შემცველ არეში, მაგრამ სუსტად ან საერთოდ არ იზრდება 2% NaCl -ის არსებობისას (EPPO Standard PM 7/21. 2004). ნახევრად სელექციურ საკვებ არეზე (კელმანის ტრიფენოლ ტეტრაზოლიუმის არე - TZC) ვითარდება *R. solanacearum* ორი მორფოლოგიური ტიპის კოლონიები, მუკოიდური, ლორწოვანი და მშრალი, არა ლორწოვანი (Smith, 1920).

ლორწოვანი ნივთიერება, ეგზოპოლისაქარიდები (EPS), რომელიც არსებობს ტიპურ ლორწოვანი კოლონიების ზედაპირზე, იწვევს მათ არარეგულარულ ფორმას. ხშირად დამახასიათებელია ხვრელები ცენტრში. *R. solanacearum* -ის კოლონიებს ფლუორესცირებადი პიგმენტი არ გააჩნია, მაგრამ ზოგიერთ საკვებ არეზე შეიძლება წარმოქმნან ხსნადი ყავისფერი პიგმენტი (Denny... 2001). გარკვეულ პირობებში, *R. solanacearum*- ის კოლონიები სპონტანურად განიცდის გარდაქმნას ლორწოვანიდან არალორწოვან მორფოლოგიურ ფორმად, რასაც უკავშირდება ამ უჯრედების მიერ დაავადების გამომწვევის შემცირებული უნარი (Kelman, 1954). ეს ფენომენი ცნობილია, როგორც "ფენოტიპური კონვერსია" (PC) და ახასიათებს ყველა რასის *R. solanacearum* - ის შტამებს (Poussier... 2003). PC-ტიპი ადვილად შეიმჩნევა კულტურის ხანგრძლივი თესვისას მყარ აგარზე, აგრეთვე როცა მიკროორგანიზმი იზრდება აზოტის ორგანული ნაერთებისა და გლუკოზის შემცველ თხევად არეში, სადაც აირთა ცვლა შეზღუდულია (Kelman, 1973).

ბაქტერიული ორგანიზმი *R. solanacearum*, როგორც ნიადაგისა და წყლის პათოგენი შეიძლება გადარჩეს და გავრცელდეს წყლისა და ნიადაგის ინფიცირებულ გარემოში, დროის სხვადასხვა პერიოდში. მრავალი ფაქტი მეტყველებს, რომ ბაქტერიას შეუძლია გადარჩეს მცენარის გარეშეც, მაღალ ტენიან გარემოში.

ბაქტერიამ შეიძლება შეინარჩუნოს სიცოცხლისუნარიანობა რამდენიმე დღის და წლის განმავლობაში წყალში, ტენიან ნიადაგში, ან ნიადაგის ღრმა ფენებში (75სმ), პათოგენის სიცოცხლისუნარიანობა დამოკიდებულია ტემპერატურულ პირობებზე. წყლის ჰაბიტატებში სხვადასხვა ფაქტორებზე, როგორცაა PH, მარილების დონე, გასათვალისწინებელია ანტაგონისტი და პარაზიტული ორგანიზმების არსებობა, რასაც შეუძლია გავლენა მოახდინოს ბაქტერიის სიცოცხლისუნარიანობაზე. ნიადაგის ჰაბიტატში კი ბაქტერიის გადარჩენაზე შეუძლია ითამაშოს გადამწყვეტი როლი ნიადაგის ტენიანობას, ნიადაგის ტიპს და მასში არსებული მცენარეთა ერთობლიობას. დაბალ ტემპერატურულ პირობებში (4°C) ბაქტერიული პოპულაციის სიმკვრივე სწრაფად მცირდება, მაგრამ ხშირ შემთხვევაში *R. solanacearum* - მა შესაძლოა შეინარჩუნოს ფიზიოლოგიური, ლატენტური ფორმა (Belén... 2010) ზამთრის განმავლობაში, ბუნებრივ ჰაბიტატებში *R. solanacearum* -ის რასა 3 ბიოვარი 2 თავს კარგად გრძნობს, წყლის მოყვარე სარეველებზე, მცენარეთა ნარჩენებზე ან არამასპინძელ მცენარეთა რიზოსფეროში, რომლებიც წარმოადგენენ ბაქტერიის გადამტანს.

პათოგენი მასპინძელ მცენარეში მოძრაობას იწყებს მცენარის ფესვებთან დაკავშირების შემდეგ. ახდენს კორტექსის ინფიცირებას და ქსილემის კოლონიზაციას (Yao... 2006), სადაც იწყებს უჯრედის კედლის დამშლელი ფერმენტების სინთეზს (Schell... 2000). მასპინძლის დაზიანების შემდეგ ბაქტერია ბრუნდება გარემოში და განაგრძობს სიცოცხლეს ნიადაგში, წყალში ან რეზერვატორ მცენარეში (Denny... 1994).

მცენარეთა ქსოვილებში პათოგენის მაღალი სიმკვრივე ზრდის პათოგენური გენების ექსპრესიას, ხოლო არა მასპინძელ მცენარეებში რეპრესირდება დაბალი ბაქტერიული სიმკვრივის გამო (Schell... 2000).

გარემოში *R. solanacearum* აღიქვამს სპეციფიკურ სტიმულებს და გადაადგილდება ცურვითი მოძრაობებით, მცენარისკენ, რათა იპოვოს შესაფერისი გარემო-პირობები (Yao... 2006). ფიტოპათოგენი აქტიურად მიისწრაფის ქემოტაქსისით სხვადასხვა ამინომჟავებისა და ორგანული მჟავებისაკენ, განსაკუთრებით კი, მასპინძელთა ფესვების ექსუდატებისაკენ არამასპინძელი

მცენარეები კი მოკლებული არიან მიზიდვის უნარს. გარდა ამისა, პათოგენის უნარი ლოკალიზდეს და დაუკავშირდეს მასპინძელს დამოკიდებულია აეროტაქსისზე ან ენერგოტაქსისზე (Yao... 2006). ზოგიერთ მუტანტური ფორმა მოკლებულია სრულფასოვან აეროტაქსისის უნარს, ამიტომ ასეთ ფორმებს შესუსტებული აქვთ პატრონ მცენარის ფესვებზე ლოკალიზაციის უნარი. ცურვითი მოძრაობა, ქემოტაქსისი და აეროტაქსისი მნიშვნელოვნად აჩქარებს ადრეულ სტადიაზე პათოგენის მიერ პატრონ მცენარის დაზიანების პროცესს (Vasse... 2005).

R. solanacearum ზრდის პერიოდში ახასიათებს მოძრაობის უნარი. ბაქტერია წარმოქმნის ერთ ან რამდენიმე მოძრავ პოლარულ შოლტს, რომელიც ეხმარება ცურვით მოძრაობაში. *R. solanacearum* უჯრედებს მოძრაობის უნარი შესწევთ, როცა სიმკვრივე უჯრედებისა $>10^6$ და $<10^9$ უჯ/მლ. ეს შეიძლება შეესაბამებოდეს კულტურის ასაკს. ყველაზე მეტი მოძრავი უჯრედები არის ექსპონენციალურ ფაზაში, მაშინ როცა სტაციონალურ ფაზაში მოძრავი უჯრედების რიცხვი მცირდება და იზრდება მოძრაობას მოკლებული უჯრედების რაოდენობა (Clough... 1997).

ცნობილია, რომ პათოგენისათვის მოძრაობის უნარი არის მნიშვნელოვანი, თვისება მასპინძელ მცენარეში შეჭრისა და კოლონიზაციისათვის (Tans-Kersten... 2001). დაავადებულ მცენარის ქსოვილში არსებული ბაქტერიის უჯრედები, უმოძრაოა, მაგრამ ხდება მოძრავი რამდენიმე საათის შემდეგ, ახალ საკვებ არეზე გამოყოფისას (Mao... 1998). ზოგადად, *R. solanacearum*-ს ახასიათებს ცურვითი მოძრაობები მყარ საკვებ არის ზედაპირზე. ცნობილია რომ, რასა 1 და რასა 2 - ის შტამები უფრო მეტად მოძრავნი არიან, ვიდრე რასა 3 -ის შტამები (Liu... 2001).

1.3.2. *R. solanacearum* -ის გენომის დახასიათება

დღეისათვის, სექვენირების მეთოდების გამოყენებით, სრულიად შესწავლილია ფიტოპათოგენური ბაქტერიის *R. solanacearum* - ის გენომი (Salanoubat ... 2002). გამოკვლევებით დადგინდა, რომ ბაქტერია გამოირჩევა შიდასახეობრივი

პოლიმორფიზმით, რომლის საფუძველია სხვადასხვა რასის შტამების გენოტიპში, განსხვავებული ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობის მქონე უბნების არსებობა. პირველად დასექვენირდა შტამი - GMI 1000, რომელიც იზოლირებული იქნა დაავადებული პომიდვრის მცენარიდან (Boucher... 1985) და კლასიფიცირდა როგორც ფილოტიპი I, რასა 1 და ბიოვარი 3, რომელსაც ახასიათებს მასპინძელ მცენარეთა ფართო დიაპაზონი (<http://www.genoscope.cns.fr>, France). მისი გენომის ზომაა 5.8 Mb, რომელიც შედგება უმეტესად გუანინის - G და ციტოზინის - C ნუკლეოტიდური წყვილისაგან (საშუალოდ 67%), და აკოდირებს დაახლოებით 5,120 ცილას. გენომი წარმოადგენს ორგანიზმულ, ორ დამოუკიდებელი რეპლიკაციის მქონე მრგვალ რეპლიკონს: 3.7 Mb-ის ზომის ქრომოსომას და 2.1 Mb-იანი მეგაპლაზმიდას (Genin... 2004). ქრომოსომის გენები განსაზღვრავენ ძირითად უჯრედულ ფუნქციებს, ხოლო მეგაპლაზმიდა აკოდირებს გენებს, რომლებთანაც დაკავშირებულია ბაქტერიის პათოგენური ბუნება და გენებს, რომელიც შეიძლება იყოს დაკავშირებული ბაქტერიის მოძრაობით ფუნქციასთან (Genin, et al., 2004).

გენსკოპით უკვე დასექვენირდა *R. solanacearum* ორი სხვადასხვა შტამის - molk 2 -ის და IPO 1609-ის გენომის განსაკუთრებული ინტერესის მქონე უბნები. მიუხედავად იმისა, რომ ორივე შტამი ეკუთვნის ფილოტიპ II, molk 2 შტამი მიეკუთვნება რასა 2-ს და იზოლირებულია ბანანიდან, გააჩნია მკაცრად შეზღუდული მასპინძელი, ხოლო IPO 1609 არის რასა 3 -ის შტამი და იზოლირებულია კარტოფილიდან (Van Elsas... 2001). molk 2 და IPO 1609 შტამების გენომების *R. solanacearum*-ის GMI 1000 შტამის 100 kb-ის მქონე სექვენირებული უბნების შედარებისას აღმოჩნდა, რომ molk 2 გენომი, GMI 1000 გენომისგან განსხვავდებოდა 30%-ით (<http://www.genoscope.cns.fr>, France). *R. solanacearum* შტამების სამი განსხვავებული გენომების შედარებით ანალიზმა აჩვენა, რომ ბაქტერიის პათოგენურობის განმსაზღვრელი დეტერმინანტები შესაბამისობაშია მასპინძელი მცენარის სპეციფიურობასთან (<http://www.genoscope.cns.fr>, France).

ამჟამად, *R. solanacearum* -ის გენომი ნაწილობრივ უკვე გამოკვლეულია, რაც მოიცავს ვირულენტურ გენებს, სეკრეტორულ სისტემაზე პასუხისმგებელ გენებს და ენდოგლუკონაზა გენს. ამ გენების შესწავლით ხდება სახეობის შიგნით გენეტიკური

მრავალფეროვნების გამოვლენა, განსაკუთრებული ყურადღება გამახვილებულია კლონური ჯგუფის რასა 3, ბიოვარი 2 A შესწავლაზე.

ცნობილი რომ, ენდოგლუკონაზას გენი აკოდირებს ფერმენტ ცელულაზას და ენდოგლუკონაზას, რომელიც გამომუშავდება *R. solanacearum*-ის უჯრედებში და წარმოადგენს ვირულენტობის ფაქტორს. ენდოგლუკონაზას გენი მდებარეობს ბაქტერიის უჯრედის მეგაპლაზმიდაში (Saile... 1997). ფეგანმა და პრიორმა (2005) აღწერეს ამ გენის ნაწილობრივი სექვენირება, რომელიც განსაზღვრავს ევოლუციონალურ ნათესაობას *R. solanacearum* -ის სახეობის შიგნით არსებულ რასებს შორის. სახეობათა კომპლექსის კვლევამ აჩვენა, რომ *R. solanacearum* -ის შტამი, რომელიც ასნებოვნებს ბანანს წარმოდგენილია, როგორც პოლიფილოტიკური ჯგუფი, რომელიც ფორმირდება ოთხი მონათესავე, მაგრამ დაშორებული კლასტერისგან, მათ შორის ერთი კლასტერი არის უცნობი. *R. solanacearum* ფილოგენეტიკურმა ანალიზმა, რომელიც ითვალისწინებდა 16S-23S შიდა ტრანსკრიბციულ, სპეისერულ უბანს (ITS) და ენდოგლუკონაზა გენის შესწავლას, აჩვენა მაღალი პოლიმორფიზმი სხვადასხვა უბნების შედარებითი კვლევისას.

R. solanacearum - ის 30 შტამის ენდოგლუკონაზას გენის ნაწილობრივი სექვენირების ანალიზის შედეგად დადგინდა მაღალი დონის ცვალებადობა ამ გენის ორ უბანში, რომლებიც ჩართული არიან დაავადების პათოგენეზში. აღნიშნული შტამების სექვენირებული უბნების ფილოგენეტიკური ანალიზით გამოვლინდა სამი ძირითადი კლასტერი, რომელიც მოიცავს *R. solanacearum* -ის ყველა იზოლატს (Poussier... 2000).

ენდოგლუკონაზა გენის თანმიმდევრობის შესწავლით გამოვლინდა მაღალი ხარისხის ცვალებადობა *R. solanacearum* -ის შტამებს შორის (Fegan... 2005). თუმცა ამ ანალიზის შედეგად დადგინდა, რომ რასა 3 ბიოვარი 2A-ს შტამებს არ ახასიათებთ პოლიმორფიზმი და ყველა შოტლანდიური წარმოშობის იზოლატი იდენტურია, რომელიც არაფრით განსხვავდება ყველა სხვა დანარჩენი რასა 3 ბიოვარ 2A შტამებისგან. გამოკვლევების შედეგად დადასტურდა თეორია, რომ ეს ჯგუფი არის გამოხატულად კლონური ხასიათის მქონე, ხოლო სახეობა, როგორც ერთი მთლიანი ძალიან მრავალფეროვანია. ფეგანისა და პრიორის მიერ განხორციელებული

კვლევებით სამ სხვადასხვა ბიოვარ 2T შტამზე, რომელთაც ჰქონდათ სხვადასხვა წარმოშობა (ბრაზილია, ინდონეზია და პერუ), გამოვლინდა განსახვავებული უბნები, რაც გვიჩვენებს ამ ჯგუფში არსებულ მრავალფეროვნებას (Fegan and Prior, 2006).

აშშ-ში განხორციელებული კვლევების შედეგად, მცენარე გერანიდან იზოლირებული იყო და სრულიად ანოტირებული იქნა UW551 - შტამის გენომი, რომელიც მიეკუთვნება რასა 3 ბიოვარ 2-ს. გუანიინი-ციტოზინის (G+C) ნუკლეოტიდური წყვილების შემცველობა იყო დაახლოებით 64.5%, (GabrielDW, et. al., 2006). GMI 1000 შტამის გენომის სექვენირების ანალიზის საფუძველზე გამოვლინდა, რომ მრავალი გენი აკოდირებს პათოგენურობის განმსაზღვრელ დეტერმინანტებს, რომლებიც საერთოა ყველა შტამისათვის, ხოლო ფერმენტების მაკოდირებელი გენები, რომლებიც განსაზღვრავენ სამი შაქრისა და სპირტის გამოყენების უნარს, განაპირობებენ შტამების დაჯგუფებას ბიოვარებად (ცხრილი 2), (Hayward 1991).

გამოკვლევებით ასევე დადგინდა, რომ ბაქტერიის ძირითად გენომში არსებობს ოთხი არასტაბილური უბანი, მრავალი ტრანსპოზონური ელემენტი, რომელიც შეიძლება აქტიურად მონაწილეობდეს გენეტიკური მასალის შექმნაში, დაკარგვასა და ცვლილებაში, რაც ხელს უწყობს გენომურ ვარიაციების გენერირებას. ასეთი მოქნილობა შეიძლება დაკავშირებული იყოს *R. solanacearum*-ის სახეობის კომპლექსის დიდ მრავალფეროვნებასთან (Genin... 2004).

1.3.3. პათოგენობის განმსაზღვრელი გენები და ფაქტორები

R. solanacearum - ში პათოგენობის განმსაზღვრელი (*hrp*) გენი აკონტროლებს როგორც დაავადების განვითარების, ისე ჰიპერმგრძობელობის რეაქციის (HR) ინდუქციას. აქედან გამომდინარე, *hrp* გენის მუტანტ ფორმებს არ შეუძლიათ გამოიწვიონ დაავადების სიმპტომები მიმღებიან მასპინძელ მცენარეებში და HR - ჰიპერმგრძობელობითი რეაქცია რეზისტენტულ ან არა მასპინძელ მცენარეებში (Boucher... 1992). ჰიპერმგრძობელობის რეაქცია (HR) არის მცენარეთა დაცვის

მექანიზმი, მცენარის სხვადასხვა ნაწილებში ბაქტერიული პათოგენის, გავრცელების წინააღმდეგ. ეს უკავშირდება მცენარის რეზისტენტობას და ხასიათდება ინფექციის ლოკალიზაციის უბანში მცენარეთა უჯრედების სწრაფი და დაპროგრამებული სიკვდილით (Nimchuk... 2003). ეს შეიძლება გამოიხატოს, როგორც ნეკროზული უბნები მცენარეთა ქსოვილებში. *hrp* გენი თავმოყრილია მეგაპლაზმიდაში და აკოდირებს III ტიპის სეკრეციის სისტემის (T3SS) კომპონენტებს და ეფექტორულ ცილებს (Gijsegem... 1993). *hrp* კლასტერებით და კონსერვაციული გენებით (*hrp* გენი) შეიძლება ფორმირდებოდეს T3SS ძირითადი ნაწილი (Bogdanove... 1996). T3SSs მნიშვნელოვანი როლი აქვს პათოგენეზში, რადგან ფიქრობენ, რომ ეფექტორული ცილების სეკრეცია ტრანსლოცირდება მასპინძელი მცენარის უჯრედში, მათ შორის თანმხლები ცილების, რომლებსაც უწოდებენ ტრანსლოკატორებს (HeS... 2004). ეფექტორული ცილები შეიძლება მონაწილეობდნენ ინფექციის ინვაზიურ ეტაპზე ან მცენარეთა თავდაცვის ინჰიბირებაში (Meyer... 2006). ზოგიერთ შემთხვევაში ეფექტორებმა შეიძლება გამოიწვიოს ჰიპერმგრძობელობითი რეაქცია, რომელიც გამოიწვობს კონკრეტული მცენარის რეზისტენტობის გენებით (Keen... 1990).

როგორც უკვე აღვნიშნეთ, პათოგენურების პროცესებში ჩართულია *R. solanacearum* -ის ენდოგლუკონაზას გენი (*Egl*) და 43 kDa ზომის ცილა (Schell... 1987) (Roberts... 1988). (*Egl*), (*peha*) ან (*pehB*) გენების ინაქტივაციამ აჩვენა, რომ თითოეული ხელს უწყობს *R. solanacearum* -ის ვირულენტობას და ჩართული არიან მასპინძელი მცენარის ქსოვილებზე კოლონიზაციის და ლპობის პროცესებში. მუტანტ ფორმებს, რომელთაც არ გააჩნიათ, ან აღენიშნებათ ცვლილება ამ გენებში იწვევენ მცენარეების ლპობას უფრო ნელა, ვიდრე ბუნებრივი ფორმები (Liu... 2005), რადგან სწორედ ეს გენები აკოდირებენ მცენარის უჯრედის კედლის დამშლელ ლიზისურ და ჰიდროლიზურ ფერმენტებს (Hikichi... 2007).

ჰიდროლიზურ ფერმენტებს გააჩნიათ უჯრედის კედლის კომპონენტების, საკვები ნივთიერებების ჰიდროლიზის უნარი, ამიტომ ჩართული არიან, ინფექციური პროცესის განვითარების ადრეულ ეტაპზე, რაც წინასწარ ეხმარება, პათოგენურ აგენტს თავისუფლად შეაღწიოს მასპინძელი მცენარის ქსოვილებში (Boucher, et al., 2001). ბაქტერიის უჯრედები წარმოქმნიან, რამდენიმე ტიპის მცენარის უჯრედის

კედლის დამშლელ ფერმენტებს, როგორცაა β -1,4-ცელობიოჰიდროლაზა (CbhA), ენდოკლუკონაზა (*Egl*) და ზოგიერთი პექტინაზები, რომელთა მოქმედების მექანიზმი ბოლომდე არ არის განსაზღვრული. აღნიშნული ფერმენტები სინთეზირდება მე-2 ტიპი სეკრეციის სისტემის (T2SS) მეშვეობით (Huang... 1999; Tans-Kersten... 1998).

1.4. *Ralstonia solanacearum*-ის კლასიფიკაცია და მრავალფეროვნება

ბაქტერიული სიდამპლის გამომწვევ ნიადაგის ბაქტერიას *R. solanacearum* -ს (მისი მაღალი ჰეტეროგენულობის გამო განიხილავენ, როგორც „სახეობათა კომპლექსს“ (Smith, 1896; Yabuuchi... 1995), (Fegan... 2005).

თავდაპირველად *R. solanacearum* - ს აკუთვნებდნენ სხვა გვარს. თუმცა აღნიშნული ბაქტერია პირველად 1890 წელს, ბურილის მიერ იქნა იზოლირებული, სმიტი იყო პირველი, რომელმაც 1896 წელს, გამოაქვეყნა სამეცნიერო ნაშრომი, სადაც *R. solanacearum* -ი მიაკუთვნა Bacillus -ის გვარს, როგორც *B. solanacearum* (Kelman 1953).

თუმცა, ამის შემდეგ იგი მიაკუთვნეს Pseudomonas ბაქტერიათა გვარს, *P. solanacearum*-ის სახელით (Kelman 1953). 1995 წლიდან ფილოგენეტიკური, პოლიფიზიკური და ფენოტიპური ანალიზის საფუძველზე შეიქმნა ახალი გვარი *Ralstonia* (Yabuuchi... 1995). მას შემდეგ, აღნიშნული ბაქტერია იწოდება როგორც *R. solanacearum* და თანამედროვე კლასიფიკაციით განეკუთვნება კლასს *Proteobacteria*-ს, β -*proteobacteria*-ს ქვეკლასს, *Burkholderiales* რიგს, *Ralstoniaceae* ოჯახს, *Ralstonia*-ს გვარს (Smith, 1896).

R. solanacearum მაღალი პოლიმორფიზმით გამოირჩევა. პათოგენის მრავალფეროვანი პოპულაცია, წარმოდგენილია რასების, ქვერასების, ბიოვარების, ბიოტიპების სახით (Hayward 1991). *R. solanacearum*-ს სახეობათა კომპლექსი, მოიცავს ხუთ რასას და ხუთ ბიოვარს (Buddenhagen... 1964). რასების იდენტიფიკაციის საფუძველს წარმოადგენს პატრონ - მცენარეთა სახეობრივი სხვაობა (ცხრილი 1).

საერთაშორისოდ აღიარებული *R. solanacearum* რასებად კლასიფიკაციის სქემა

Buddenhagen (1986)

რასები	მასპინძელი მცენარეები
1	ძალყურძენისებრთა ოჯახის მცენარეები, სხვადასხვა ოჯახის წარმომადგენლები: ლობიო, მიწის თხილი და მზესუმზირა; დეკორატიული მცენარეები: <i>Anthurium spp.</i> ; <i>Dahlia spp.</i> ; <i>Heliconia spp.</i> ; <i>Hibiscus spp.</i>
2	ბანანისებრთა ოჯახის წარმომადგენლები
3	კარტოფილი, პომიდორი, წიწკა
4	სანელებელი მცენარე კოჭა
5	თუთის ხე

რასა 1 –ის მასპინძელ მცენარეებს წარმოადგენს ძალყურძენისებრთა ოჯახის მცენარეები: წიწკა, ბულგარული, ბადრიჯანი, კარტოფილი, თამბაქო და პომიდორი. სხვადასხვა ოჯახის წარმომადგენლები: ლობიო, მიწის თხილი და მზესუმზირა. დეკორატიული მცენარეები: *Anthurium spp.*; *Dahlia spp.*; *Heliconia spp.*; *Hibiscus spp.*; *Lesianthus spp.*; *Lilium spp.*; *Pothos spp.*; *Strelitzia spp.*; *Verbena spp.* და *Zinnia spp.* ხე-მცენარეები: ევკალიპტი და ნაყოფიანი ხეები როგორცაა: *Diospuros nigra*; *Annona reticulata*, *Musa textilis*.

რასა2 აავადებს ბანანის ორ სახეობას (სასალათე და სადესერტე), *Musa spp.* სახეობებს, დეკორატიულ და ფართოდ გავრცელებულ *Heliconia spp.* -ს..

რასა 3 არის კარტოფილისა და პომიდვრის ძირითადი პათოგენი. ბაქტერიათა ამ ჯგუფის მასპინძელ მცენარეთა მრავალფეროვნება უფრო მცირეა ვიდრე რასა 1– სა. შეიძლება დაასწებოვნოს და დააზიანოს ძალყურძენისებრთა ოჯახის სხვა მცენარეები: ბადრიჯანი, ოთახის გერანი, კარტოფილი, პომიდორი, სარეველები, როგორცაა ძალყურძენა - *S. nigrum*.

რასა 4-სთვის მასპინძელია სანელებელი მცენარე ჯანჯაფილი, ხოლო რასა 5 -თვის მასპინძელი მცენარეა თუთის ხე (*Morus spp.*) ეს რასა გვხვდება მხოლოდ ჩინეთში.

რაც შეეხება კლასიფიკაციას ბიოვარების მიხედვით, იგი ემყრება ზოგიერთი ნახშირწყლისა და სპირტების გამოყენების უნარს (ცხრილი 2), (Hayward 1991).

ცხრილი 2

საერთაშორისოდ აღიარებული *R. solanacearum* -ის ბიოვარებად კლასიფიკაციის სქემა Hayward (1964).

შაქრების უტილიზაცია	ბიოვარები				
	I	II	III	IV	V
მალტოზა	-	+	+	-	+
ლაქტოზა	-	+	+	-	+
ცელობიოზა	-	+	+	-	+
მანიტოლი	-	-	+	+	+
სორბიტოლი	-	-	+	+	-
დულციტოლი	-	-	+	+	-

პოუსიერის (2000) მიერ წარმოდგენილ იქნა კლასიფიკაციის სისტემა, რომლის საფუძველია ენდოგლუკონაზას გენის და 16S – 23S, შიდატრანსკრიბციული, სპეისერული უბნების (ITS) ნუკლეოტიდური თანმიმდევრული მონაცემების ფილოგენეტიკური ანალიზის შედეგები. ამ კლასიფიკაციის მიხედვით, ფილოტიპი I აერთიანებს შტამებს, რომელიც გავრცელებულია აზიაში და მოიცავს მე-3, მე-4 და მე-5 ბიოვარებს. II ფილოტიპში - შედიან შტამები, რომლებიც გავრცელებულია ამერიკაში, ბიოვარებიდან გვხვდება 1, 2A და 2T, ამასთან ერთად კარტოფილის მურა სიდამპლის გამომწვევი რასა 3 ბიოვარი 2A, რომელიც გავრცელებულია მთელ მსოფლიოში და რასა 2 - ბანანის დაავადების გამომწვევი. ფილოტიპი III ძირითადად წარმოდგენილია შტამებით, რომლებიც გამოყოფილი იყო აფრიკაში და მიმდებარე

კუნძულებზე და მოიცავს ბიოვარ 1 და 2T -ს შტამებს. ფილოტიპი IV შედგება, ბიოვარ 1, 2A და 2T შტამებისგან, ძირითადად გვხვდება ინდონეზიაში (Fegan... 2005), (ცხრილი 3).

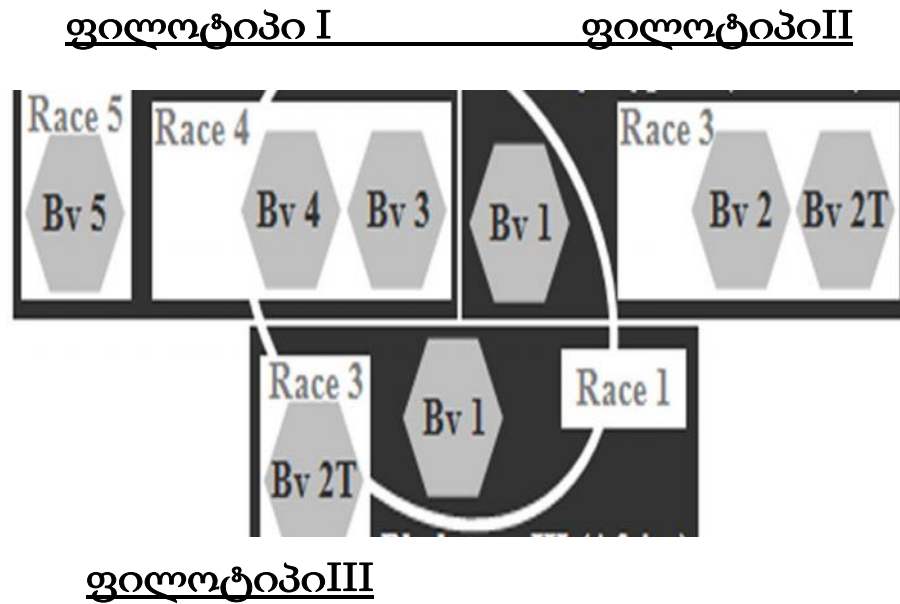
ცხრილი 3

Ralstonia solanacearum - ის ფილოგენეტიკური ჯგუფების განსაზღვრა

ფილოტიპი	წარმოშობა	ბიოვარი
I	პირველადი წყარო მომდინარეობს აზიიდან	3, 4 და 5
II	პირველადი წყარო ამერიკიდან	1, 2A, 2T მურა სიდამპლის გამომწვევი რასა 3 კარტოფილის პათოგენი და მოკო დაავადების გამომწვევი, ბანანის პათოგენი
III	პირველად გამოიყო აფრიკიდან და მიმდებარე კუნძულებიდან	1, 2T
IV	პირველადი წყარო ინდონეზიიდან, იაპონიიდან და ავსტრალიიდან	1,2A,2T სისხლის დაავადების ბაქტერია და <i>R. syzygii</i>

R. solanacearum -ის მოცემული კლასიფიკაციის სქემა ასახავს მკაფიოდ გამოხატულ ფენოტიპურ და გენოტიპურ ვარიაციას სახეობის ფარგლებში. აქედან გამომდინარეობს ტერმინი *R. solanacearum*-ის „სახეობის კომპლექსი“ (Gillings... 1993), რომელიც განისაზღვრება როგორც, "ახლო, მონათესავე იზოლატების კლასტერები,

რომლის ინდივიდუალური წევრები შეიძლება წარმოადგენდეს ერთზე მეტ სახეობას" (Fegan... 2005) (სურათი 1).



სურათი 1. მრავალფეროვნება *R. solanacearum* სახეობათა კომპლექსში.

ფილოტიპები შემდგომ იყოფა ჯგუფებად, სექცოვარებად. ზოგიერთი სექცოვარის დაჯგუფების საფუძველია შტამების პათოგენური ბუნება და მასპინძელ მცენარეთა სახესხვაობა, ან გეოგრაფიული წარმოშობა. ამ სისტემას აღმოაჩნდა მაღალი დისკრიმინაციულობა და მოქნილობა. კლასიფიკაციის განხილული სისტემა ძირითადად ავლენს ბაქტერიული შტამების თვისებების პროგნოზირებას, რასაც დიდი მნიშვნელობა ენიჭება ბაქტერიული სიდამპლის კონტროლისათვის (Poussier... 2000).

ამრიგად, აღიარებული ფილოგენეტიკური სისტემის მიხედვით *R. solanacearum* იყოფა ოთხ დიდ გენეტიკურ ჯგუფად – ფილოტიპად. იგი ასახავს თითოეული ჯგუფის გეოგრაფიულ საწყისს და სახეობებს შორის მემკვიდრულ ნათესაობას (Fegan and Prior 2005)

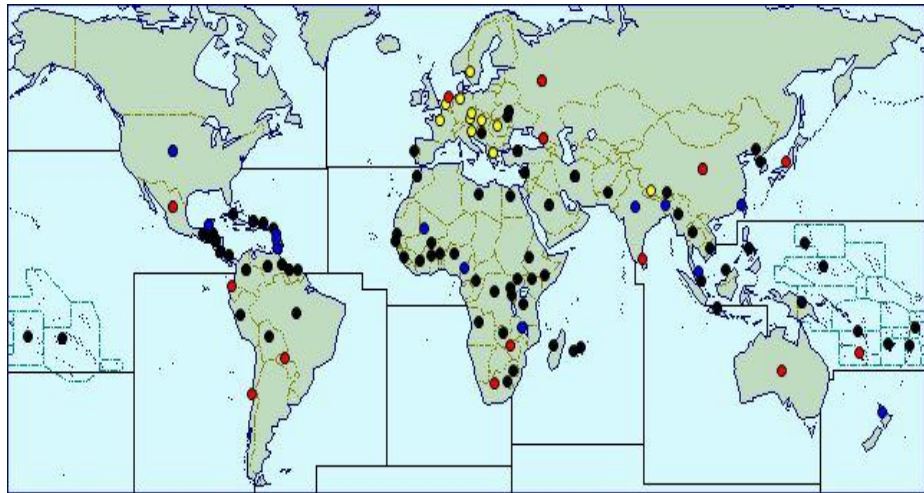
1.5. *R. solanacearum* –ის მასპინძელი მცენარეები და გეოგრაფიული გავრცელება

R. solanacearum –ით გამოწვეული დაავადება ფართოდაა გავრცელებული მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში: დიდი ბრიტანეთი, საფრანგეთი, საბერძნეთი, იტალია, ჰოლანდია, პოლონეთი, რუმინეთი, ბულგარეთი, იუგოსლავია, პორტუგალია, კანადა, ავსტრალია. აშშ, ჩინეთი, ინდოეთი, ირანი, ისრაელი, იაპონია, ლატვია, მოლდავეთი, ბელარუსი, ბელგია, თურქეთი, უკრაინა, სომხეთი, ფილიპინები, უგანდა, ტუნისი, კენია, ახალი ზელანდია და სხვა (CABI, 2003). *R. solanacearum* -ს ახასიათებს მასპინძელ მცენარეთა ფართო სპექტრი: ბანანი და მრავალპარღვა (*Musa paradisiaca*), ბადრიჯანი (*Solanum melongena*), მიწის თხილი (*Arachis hypogaea*), კარტოფილი (*S. tuberosum*), თამბაქო (*Nicotiana tabacum*) და პომიდორი (*Lycopersicon esculentum*), (EPPO Bull. 2004). მათი უმრავლესობა ეკუთვნის Solanaceae - სა და Musaceae –ის ოჯახებს. როგორც ცნობილია პატრონ მცენარეთა მიხედვით *R. solanacearum*–ის სახეობა იყოფა 5 რასად (Hayward, 1994), რომელთაც განსხვავებული გეოგრაფიული წარმოშობა და გავრცელება ახასიათებს.

რასა1 – გავრცელებულია ხუთივე კონტინენტზე. ენდემურია სამხრეთ ამერიკის შტატებისათვის. რასა1– ის სახეობები ვერ უძლებენ ჩრდილოეთ ზამთრის კლიმატს. ნიადაგისა და წყლის დაბალ ტემპერატურას. მისგან განსხვავებით რასა3 ბიოვარი 2 დიდ ხანს ინარჩუნებს ცხოველყოფელობას ტროპიკების, მთიანი რეგიონების, ზომიერი ჰავის პირობებში (Elphinstone 2005).

რასა2 – ძირითადად გვხვდება სამხრეთ ამერიკის ტროპიკულ არეალში და ფილიპინებში.

რასა 3 არის გავრცელებული ხუთივე კონტინენტზე (რუკა 1), (Elphinstone... 2005). საკარანტინო სტატუსი აქვს აშშ–ში და კანადაში, სადაც საფრთხეს უქმნის კარტოფილის ინდუსტრიას. მისი გავრცელებისათვის ხელის შემწყობი ფაქტორია დეკორატიული მცენარეები, აშშ–ში რასა 3, შესულია აგროტერორიზმის აგენტთა სიაში (Swanson... 2005). რასა 3 –ის არსებობა ევროპის ზოგიერთ ქვეყანაში, ძირითადად განპირობებულია ლატენტურად ინფიცირებულ კარტოფილის იმპორტით იმ რეგიონებიდან, სადაც დაავადება ენდემურია (Janse... 1996).



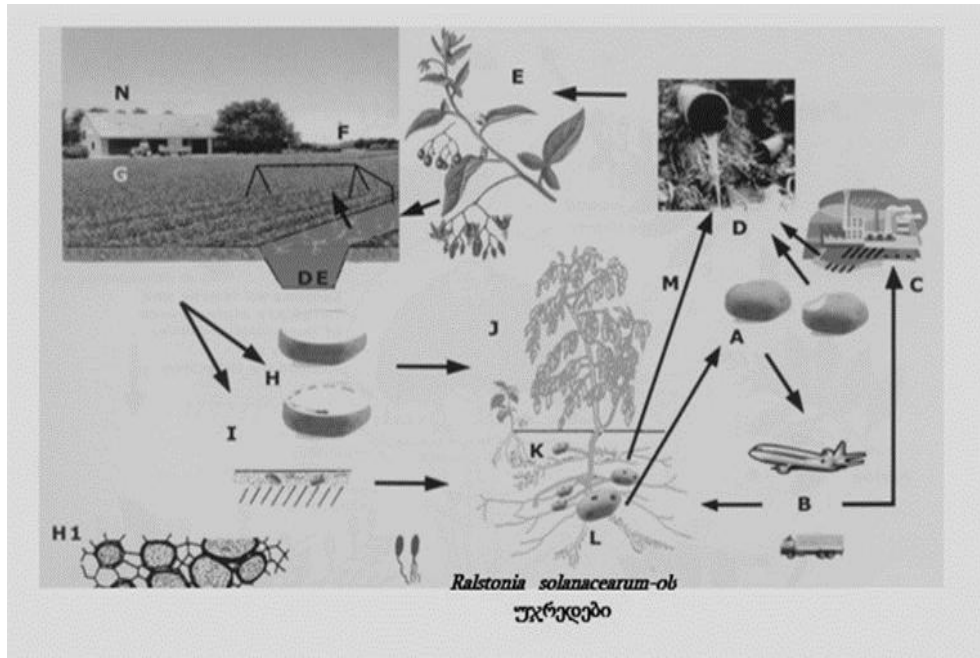
(<http://www.cabi.org/> ; 2016)

რუკა 1. *R. solanacearum*-ის რასა 3 ბიოვარი 2 შტამების გავრცელების რუკა მთელ მსოფლიოში

რასა 4 - გავრცელებულია აზიის ქვეყნებში (Elphinstone, 2005). რასა 5 კი, გვხვდება მხოლოდ ჩინეთში.

პომიდორის, კარტოფილის, თამბაქოს, ბანანის და მიწის თხილის კულტურათა ნარგავებში ბაქტერიული სიდამპლის ეპიდემიური ხასიათის გავრცელებამ, შეიძლება გამოიწვიოს მოსავლის მნიშვნელოვანი დანაკარგი (Elphinstone, 2005). აღნიშნული ბაქტერიით გამოწვეული ეკონომიკური ზარალი, ცნობილია მსოფლიოს მნიშვნელოვან ნაწილში. ძირითადად დანაკარგი დამოკიდებულია ადგილობრივ კლიმატზე, ნიადაგის ტიპზე, თესვის პრაქტიკაზე, მცენარეთა კულტივირებისა და სათესლე მასალის შერჩევაზე, აგრეთვე *R. solanacearum*-ის ადგილობრივი რასის ვირულენტურ სტრუქტურაზე.

პათოგენის გავრცელების მრავალი გზა არსებობს: კონტამინირებული ნიადაგი, სარწყავი წყალი, ზედაპირული წყლები, დაავადებული მცენარეების გადარგვა (გერანის კალმები, პომიდორის, წიწაკის, ბადრიჯნის ჩითილები და სათესლე კარტოფილი (Janse, 1996). არასტერილური დანის გამოყენებით ჩატარებული მცენარეთა კალმებით და კვირტების ბჯვლით) და პერსონალის მიერ მცენარეთა ქსოვილებით ინფიცირებული ტანსაცმელი (სურათი 2).



სურათი 2. ბაქტერია *Ralstonia solanacearum* – ის გავრცელების გზები

სათბურში ადვილად ვრცელდება ფიტოსანიტარული პრაქტიკის კონტროლის დარღვევის დროს, როდესაც ადგილი აქვს სარწყავი სისტემის გაუმართაობას.

ლიტერატურული მონაცემებით ცნობილია (Williamson... 2002), რომ რასა 3 ბიოვარი 2 ამერიკაში გავრცელდა ლატენტურად ინფიცირებული გერანის კალმების შეტანით, რომელიც იწარმოებოდა სხვა ქვეყნებში არსებულ სათბურებში. 1999- 2000 წლებში იყო რამდენიმე შემთხვევა, როცა იმპორტირებული გერანის კალმები მგრძნობიარე აღმოჩნდა რასა 3 ბიოვარი 2 –ის მიმართ (Kimetal, 2002 end 2003). აშშ–ში სანიტარული პირობების დარღვევამ გამოიწვია დაავადების მასობრივი აფეთქება, რომელსაც უძღვოდა 7 გვარის მცენარეების დასენიანება. 2003 წლის შედეგები გვამცნობენ, რომ 27 შტატის 127 ინდივიდუალურ სათბურში გამოყოფილი იქნა მიკროორგანიზმი - *R. solanacearum* (Daughtrey 2003).

აქედან გამომდინარე, შეგვიძლია ვთქვათ, რომ პათოგენი ხასიათდება როგორც მასპინძელ მცენარეთა, ასევე გავრცელების გზების მრავალფეროვნებით, რის გამოც დაავადებასთან ბრძოლა ძალიან რთულია და მოითხოვს მუდმივი საკონტროლო, კომპლექსური ღონისძიებების გატარებას.

1.6. ბაქტერიოფაგები

1.6.1. ბაქტერიოფაგების აღმოჩენა და გავრცელება

ბაქტერიოფაგები (ბაქტერიული ვირუსები) ფართოდაა გავრცელებულია მთელ სამყაროში. ისინი გვხვდება ოკეანეებში, ნიადაგში, ზღვის სიღრმეებში, სასმელ და რეკრეაციულ წყლებში, საკვებში, ადამიანის, ცხოველების და მცენარეების ორგანიზმში. ისინი მნიშვნელოვან როლს თამაშობენ ეკოსისტემის მიკრობული ბალანსის რეგულაციაში (Stockwell... 1998). ბაქტერიოფაგები გამოირჩევა მდგრადობით სხვადასხვა ფიზიკო-ქიმიური ზემოქმედებისას, შედარებით გამძლენი არიან მაღალ ტემპერატურის (50-60°C), გამოშრობისა და გაყინვის მიმართ, დიდი ხნის განმავლობაში ინარჩუნებენ სტაბილურობას დაბალ ტემპერატურაზე. თუმცა, ულტრაიისფერი სხივები და მაიონიზირებელი რადიაცია ახდენს მათ ინაქტივაციას (Bergh... 1989)

მიკროორგანიზმების კულტურის ლიზისი პირველად 1898 წელს რუსი ბაქტერიოლოგის ნიკოლაი გამალეას მიერ იქნა აღწერილი, ციმბირის წყლულის გამომწვევი ბაცილების ფილტრატის გამოკვლევისას, თუმცა მან ვერ შეძლო ამ მოვლენის არსის ახსნა. მოგვიანებით კი, 1915 და 1917 წლებში, ფრედერიკ ტვორეტმა და ფელიქს დერელმა ერთმანეთისაგან დამოუკიდებლად მოახდინეს ინფექციური აგენტების გამოვლენა და დერელმა უწოდა ბაქტერიის მშთანთქმელები - ბაქტერიოფაგები (Токарчук... 1985), (Darasse... 1994). იმავე პერიოდში, 1917 წელს გიორგი ელიავამაც აღწერა ბაქტერიოფაგის ფენომენი. მას შემდეგ კი უამრავი მეცნიერი ჩაერთო ამ მიართულების განვითარებაში (Adams, 1959; Max Delbruck; Alfred Hershey, 1971წ), (Gunther... 1994წ) და დღემდე ბაქტერიოფაგების კვლევა აქტიურად მიმდინარეობს.

1.6.2. ბაქტერიოფაგების კლასიფიკაცია; ბაქტერიოფაგების მორფოლოგია და ფიზიოლოგია, განვითარების სასიცოცხლო ციკლი

1943 წელს პირველად ელექტრონული მიკროსკოპის დახმარებით Ruska -მ მოახდინა ვირუსების კლასიფიკაცია და ბაქტერიოფაგების დაყოფა სამ

მორფოლოგიურ ტიპად (Габрилович...1973). Lwoff, Horne და Tournier-ის მიერ 1962 წელს შემოთავაზებული ვირუსების კლასიფიკაცია (George... 2015) დაფუძნებული იყო ვირუსული ნუკლეინის მჟავის ბუნებაზე (დნმ თუ რნმ- შემცველი), კაფსიდის ფორმის, კაფსომერების რაოდენობასა და სხვა მახასიათებლებზე. შემდგომ, 1967 წელს ბრედლის მიერ (Bradley 1967) მოწოდებული იქნა ნუკლეინის მჟავის ტიპისა და მორფოლოგიაზე დამყარებული კლასიფიკაცია, რომლის მიხედვითაც ბაქტერიოფაგები 6 ძირითად ჯგუფად დაიყო. ბრედლის სქემა მოგვიანებით უფრო გაფართოვდა და შეივსო ახლად აღმოჩენილ სხვადასხვა კუბურ, ფილამენტურ და პლეომორფულ ფაგებით (Ackermann and Eisenstark, 1974).

ბაქტერიოფაგების თანამედროვე კლასიფიკაცია ემყარება ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) რეკომენდაციებს (<http://www.ictvonline.org/>). ვირიონის მორფოლოგიისა და ნუკლეინის მჟავის ტიპის მიხედვით ბაქტერიოფაგები გაერთიანებულია 13 ოჯახად და 31 გვარად. დღესდღეობით კუდიანი ფაგები წარმოადგენს ყველაზე მრავალრიცხოვან და ფართოდ გავრცელებულ ჯგუფს, რომლებიც მორფოლოგიური, ფიზიკო-ქიმიური და ფიზიოლოგიური მახასიათებლებით ჰგვანან ერთმანეთს, ამიტომ ისინი გაერთიანებული არიან ცალკე რიგად Caudovirales. ამ რიგში შემავალი ფაგები კუდის სტრუქტურის მიხედვით იყოფა სამ დიდ ჯგუფად ან ოჯახად (Ackermann 2001):

Myoviridae-ს ოჯახის ფაგებს აქვთ კუმშვადი კუდი, რომელიც შედგება ცენტრალური ღერძისაგან და შეკუმშვის უნარის მქონე შალითისაგან (ამ ოჯახში გაერთიანებულია კუდიანი ფაგების დაახლოებით 25 %). ტიპური წარმომადგენელია T4 ფაგი.

Siphoviridae -ს ჯგუფის ფაგებს აქვთ გრძელი კუდი, რომლის შალითასაც არ გააჩნია შეკუმშვის უნარი (გაერთიანებულია კუდიანი ფაგების დაახლოებით 61 %). ტიპური წარმომადგენლები არიან T5 და λ ფაგები.

Podoviridae - ს ჯგუფის ფაგებს აქვთ მოკლე კუდებით, რომელთაც ასევე არ აქვთ შეკუმშვის უნარი. ტიპური წარმომადგენელია T7 ფაგი (Ромашка ... 1988).

ყველა ფაგი, რომელიც მიეკუთვნება Caudovirales (კუდიანი ფაგები) შეიცავს ორჯაჭვიან დნმ-ს (ds DNA) და გენომის ზომა შ 18,000 - დან 500,000bp -მდეა. ვირუსის ნაწილაკებს აქვთ მკაფიო ბინალური სიმეტრია, მათი თავები არის კუბური

სიმეტრიის, ხოლო კუდები სპირალური სიმეტრიისაა. კაფსიდი არის იკოსაედრის ფორმის (ოცწახნაგა), რომელიც შეიცავს ვირუსულ გენომს და საყელოს საშუალებით უკავშირდება კუდს. კაფსიდური პროტეინები ორგანიზებულია კაპსომერში სუბერთეულებად. კუდიანი ფაგების სტრუქტურაში შედის აგრეთვე თავისა და კუდის ფიმბრიები, ბაზალური ფირფიტა, საყელო და ტერმინალური სპიკები. აღსანიშნავია რომ, Myoviridae -ს კაფსიდი უფრო დიდი ზომისაა და მეტი რაოდენობით დნმ-ს შეიცავს. კუდიანი ფაგების ეს ჯგუფი უფრო მეტად გამოიყენება ფაგოთერაპიაში.

კუდიანი ფაგებით პატრონი უჯრედის ინფექციის პროცესი ძალზედ სპეციფიკურია და იწყება მასპინძელი უჯრედის ზედაპირზე არსებული მოლეკულებისა და ბაქტერიოფაგის კუდზე განლაგებული მიმაგრების საიტების ურთიერთამოცნობით და დაკავშირებით, რაც გრძელდება შემდეგი 3 ძირითად ეტაპის სახით:

1. უჯრედზე ფაგის ადსორბცია და ვირუსული გენომის უჯრედში შეჭრა.
2. ფაგის გენომის რეპლიკაცია და ახალი ფაგური ნაწილაკების აწყობა
3. უჯრედის ლიზისი და ფაგური ნაწილაკების გამოთავისუფლება;

ზომიერი ფაგებით ინფექციის პროცესში შესაძლოა ჩაერთოს ლიზოგენიის მექანიზმი, რომლის დროსაც ფაგი ჩაჯდება მასპინძლის გენომში და რეპლიცირდება მასთან ერთად (ან პლაზმიდის მსგავსად) სინქრონულად, რის გამოც ლიზისიურ ციკლზე პასუხისმგებელი გენები რეპრესირდება, არ ხდება უჯრედების ლიზისი და ინფიცირებული ბაქტერიიდან კვლავ წარმოქმნილი ფაგების გამოთავისუფლება.

1.6.3. ფიტოპათოგენური ბაქტერიების ფაგები და მათი პრაქტიკული მნიშვნელობა

პირველად ფიტოპათოგენური ბაქტერიების ფაგები აღწერილი იქნა 20-იანი წლების ბოლოს (Mellmann... 1924; Coons E.N, Kolile I.E, 1925; Израельский, 1968), რომლებიც გამოყოფილი იქნა ნიადაგიდან, ჩამდინარე წყლიდან, მცენარეების

დაზიანებული ქსოვილებიდან. ფიტობაქტერიოფაგები შეიძლება აღმოვაჩინოთ იქ, სადაც ბინადრობენ შესაბამისი ბაქტერიები: დაავადებული მცენარის ქსოვილში, ინფიცირებულ თესლში, ნიადაგში, ჩამდინარე წყლებში და ა.შ. ბაქტერიოფაგების გამოსაყოფად სასურველია, გამოყენებული იქნას მცენარის დაზიანებული უბანი, ან მასთან მიმდებარე ჯანმრთელი ქსოვილები, რადგან მეცნიერთა აზრით, ფაგი არ ვრცელდება დამოუკიდებლად დასნებოვნებულ მცენარეში, იგი ფაქტობრივად, კვალდაკვალ მისდევს შეჭრილ ბაქტერიას (Израельский, 1985; Новикова, 1940). დღესდღეობით გამოყოფილია და შესწავლილია სხვადასხვა სახის ფაგები (Yamada... 2007).

ფიტოპათოგენური ბაქტერიების ფაგების ლიზისური მოქმედების სპექტრი მრავალფეროვანია, დაწყებული მკაცრად სპეციფიკური ფაგებიდან დამთავრებული *Pseudomonas* და *Xanthomonas* გვარის ბაქტერიათა ლიზისის უნარის მქონე ფაგების ჯგუფით. მოქმედების ფართო სპექტრი ახასიათებთ უფრო მეტად, იმ ფაგებს რომლებიც გამოყოფილია ნიადაგიდან, ჩამდინარე წყლებიდან ან სხვა წყაროებიდან, რომლებიც ბუნებრივად წარმოადგენენ ბაქტერიების საარსებო გარემოს (Габрилович 1973).

ფიტოპათოგენური ბაქტერიების ფაგები, შეიძლება გამოყენებული იქნას სამი ძირითადი მიმართულებით (დავითაშვილი, თედიაშვილი, 2000):

1. დაავადების სწრაფი დიაგნოსტიკისთვის გამომწვევის სუფთა კულტურის გამოყოფის გარეშე.
2. გამომწვევის იდენტიფიკაციისათვის ფაგოტიპირების მეთოდით.
3. როგორც პროფილაქტიკური და სამკურნალო საშუალება ბაქტერიოზებთან ბრძოლისათვის.

ბაქტერიოფაგების გამოვლენა მათი გამოყოფის გარეშე ხელს უწყობს დაავადების დიაგნოსტიკებას ადრეულ პერიოდში. ეს კი შესაბამისად საშუალებას გვაძლევს, დროულად და ეფექტურად გამოვიყენოთ ბრძოლის მეთოდები. პირველად ეს ხერხი მოწოდებული იქნა 1951 წელს კაც-ნელსონის და სატონის მიერ, რაც ემყარებოდა ფაგის ტიტრის მატებას მცენარეულ სუბსტრატში, მგრძნობიარე ბაქტერიების არსებობისას. ამ ორიგინალური მეთოდის საშუალებით დადგენილი იყო *P. syringe*,

Pv. Phaseolicola, *X. oryzae* და *X. phaseoli* - ით გამოწვეული ფარული ინფექციის არსებობა ლობიოს ფოთლებში. შემდგომში ეს მეთოდი გამოყენებული იქნა სხვადასხვა სუბსტრატში (წყალი, საკვები პროდუქტები), ბაქტერიული ინფექციების გამოსავლენად (Katznelson ... 1937); (Yamada... 2007).

ბაქტერიოფაგის ტიტრის მატების კავშირი პათოგენურ პროცესებთან შეიძლება გამოყენებულ იქნას დაავადების განვითარების ალბათობის წინასწარი განსაზღვრისთვის. გოტას და ფრანსის მონაცემებით, (1971 წ.) *X. oryzae* ფაგების რაოდენობა ბრინჯის ნათესის წყალში და საირიგაციო არხებში საგრძნობლად მატულობს შესაბამისი ბაქტერიოზის აფეთქების წინ.

ცნობილია, რომ ფაგოტიპირება ფართოდ გამოიყენება ადამიანისა და ცხოველთა ბაქტერიული დაავადებების ეტიოლოგიური აგენტების სახეობრივი კუთვნილების დასადგენად და შიდა სახეობრივი დიფერენციაციისათვის. ეს სწრაფი და მარტივი მეთოდი ასევე წარმატებით იყო გამოყენებული ფიტოპათოგენური ბაქტერიების სახეობის განსაზღვრისათვის. ბილინგის და თანაავტორების მიერ (Billing et al, 1960 წ.) შემოთავაზებული იყო ჯვარედინი ფაგოლიზისის მეთოდი *E. amylovora* და *P. syringae* ბაქტერიების დაყოფისთვის, რომლებიც ფაქტობრივად ერთსა და იმავე ეკოლოგიურ ნიშაში ბინადრობენ და ახასიათებთ მსგავსი სიმპტომატიკა.

ჯერ კიდევ, 30-40 -იანი წლებში ზოგიერთი მეცნიერი (Лебедева, 1939; Новикова, 1952). სპეციფიკური ბაქტერიოფაგებს იყენებდა მცენარეთა ბაქტერიული დაავადებების მკურნალობასა და პროფილაქტიკის მიზნით. კერძოდ, ნაჩვენებია იყო ბაქტერიული ვირუსების ეფექტურობა *P. Syringae* -თი გამოწვეული ბამბის, თამბაქოს, კიტრის, ლობიოს ბაქტერიოზების სამკურნალოდ. ზოგიერთ შემთხვევაში დაფიქსირებული იყო ფაგით დამუშავებული მცენარეების ავადობის შემცირება 50-60%-ით (კონტროლთან შედარებით).

რაც შეეხება *R. solanacearum* -ის მიმართ სპეციფიკური ბაქტერიოფაგებს, ლიტერატურული წყაროებიდან ცნობილია, რომ ბოლო ათწლეულში გამოყოფილია მთელი რიგი ბაქტერიოფაგებისა, მათ შორის 2001-2003 წწ. და შემდგომ წლებშიც საქართველოს გარემო სინჯებიდან (Lashkhi... 2003), რაც ირიბად მიუთითებდა *R.*

solanacearum-ის არსებობაზე ჩვენს რეგიონში, მაშინ, როცა არ იყო გამოყოფილი თვით გამომწვევი. ეს ფაგები დახასიათებული იყო მორფოლოგიური - ფიზიოლოგიური თვისებების მიხედვით.

R. solanacearum - ის მიმართ სპეციფიკური ფაგები გამოყოფილ იქნა იაპონელი მეცნერების მიერ (Tanaka... 1990); (Ozawa... 2001). ვირულენტური P4 282 ფაგს- და მის მონათესავე ფაგებს აქვთ 69 ნმ დიამეტრის პოლიედრული თავი და 205ნმ სიგრძის მოკლე კუდი, და შეიცავენ ცირკულარულ 39.3-kbp ds-დნმ გენომს (Ozawa... 2001). ფაგი PK-101, გამოყოფილია ნიადაგიდან და აქვს ხაზოვანი 35-kb; ds-დნმ -ისგან შედგენილი გენომი (Toyoda... 1991). თუმცა ორივე ფაგს ახასიათებს ვიწრო სპეციფილურობა მასპინძლის მიმართ, ასწავლებს *R. solanacearum* -ის მხოლოდ ერთ ან რამდენიმე შტამს. ჩატარებული იყო ცდები P4 282 ფაგის გამოყენების მიზნით თამბაქოს ბაქტერიოზების პროფილაქტიკისათვის (Tanaka... 1990). გამოყოფილი და დახასიათებულია განსხვავებული მოქმედების რამოდენიმე ფაგი, რომლებიც სპეციფიკურია *R. solanacearum* -ის სხვადასხვა რასებისა და ბიოვარების მიმართ. მათ შორის FRSS1 and FRSM1, რომელიც მიეკუთვნება ფილამენტურ - F ფაგის მსგავს ფაგების ჯგუფს (Inoviridae) (Yamada... 2007). ფაგი RSA1 მიეკუთვნება P2 მსგავს თავ-კუდიან ფაგებს მიოვირიდეს ოჯახიდან (Myoviridae), რომელთაც ახასიათებთ ფართო მასპინძელთა სპექტრი. RSL1 ფაგს, სხვა მიოვირუსების მსგავსად აქვს დიდი გენომი დაახლოებით 240 kbp ზომის და მკაცრად სპეციფიურია *R. solanacearum* -ის ცალკეული შტამების მიმართ (Takashi... 2012). ბოლო დროინდელი ექსპერიმენტებით ნაჩვენები იყო, რომ ნიადაგის დამუშავება *R. solanacearum*-ის მიმართ სპეციფიკური ფაგების ნაკრებით ინოკულაციამდე, 10-20%-ით ამცირებს პომიდორის ბაქტერიული ჭკნობის განვითარებას (Kalpage* and De Costa 2014).

ზემოთ მოყვანილი სამეცნიერო ლიტერატურის ანალიზის საფუძველზე, კარგად ჩანს ბაქტერიოფაგების, როგორც მცენარეთა ბაქტერიოზების გამომწვევების მიმართ სპეციფიკური ფაგების გამოყენების პერსპექტივა, როგორც პათოგენის არსებობის საინდიკაციო-სადიაგნოსტიკო და ასევე შტამების სუბტიპირების საშუალება. ასევე მომავალში პერსპექტიულად ჩანს მათი როგორც ბაქტერიოზებთან ბრძოლის

ეფექტური და ეკოლოგიურად უსაფრთხო საშუალების გამოყენება, თუმცა სოფლის მეურნეობაში ბაქტერიოფაგების თერაპიული მიზნით გამოყენებისას უნდა გათვალისწინებულ იქნას ის გარემოება, რომ გარკვეული ფიტოპათოგენების მიმართ სპეციფიურმა ფაგებმა მათი გავრცელების არეალის გარეთ შეიძლება ვერ გამოავლინონ თავისი აქტივობა. ამიტომ კონკრეტულ გეოგრაფიულ რეგიონში ფაგური პრეპარატების გამოყენებამდე უნდა შესწავლილ იქნეს ამ ტერიტორიაზე გავრცელებული პათოგენტა მგრძნობელობა მოცემული ფაგის მიმართ. ამასთან უპირატესობა ენიჭებათ გადამფარავ ლიზისური სპექტრის მქონე და გარემო პირობებისადმი გამძლე ფაგებისგან შემდგარ პოლივალენტურ პრეპარატებს (დავითაშვილი და თედიაშვილი, 2000). ფიტოპათოგენების ფაგების სხვასხვა მიზნით გამოყენებისათვის აუცილებელია შეიქმნას კარგად შესწავლილი ფაგების დიდი კოლექცია, რომლის ცალკეული წარმომადგენელი წარმატებით შეიძლება გამოყენებულ იქნეს პრაქტიკული მიზნით კონკრეტულ სიტუაციაში.

1.7. ფიტონციდების და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების გამოყენება *R. solanacearum* -ით გამოწვეულ მცენარეთა ბაქტერიული დაავადების წინააღმდეგ

R. solanacearum გამოწვეულ მცენარეთა ბაქტერიული ლპობის წინააღმდეგ ბრძოლის ღონისძიებათა არსენალში ჯერ-ჯერობით მცირე ადგილი უჭირავს ბიოლოგიურ საშუალებებს. ძირითადად გამოიყენება სხვადასხვა სახის აგროტექნიკური ხერხი, ფიზიკური და ქიმიური დამუშავება, რაც ხშირად იწვევს გარემოს დაბინძურებას და საფრთხეს უქმნის ადამიანთა ჯანმრთელობას. ამავე დროს მნიშვნელოვნად იზრდება აღნიშნულ პრეპარატების მიმართ რეზისტენტული ბაქტერიული შტამების რიცხვიც (Sundin... 1996). რაც ხშირად არაეფექტურს ხდის ჩატარებულ ღონისძიებებს. თანამედროვე მოთხოვნების შესაბამისად ბაქტერიოფაგებთან ბრძოლის ხერხები უნდა იყოს ეკონომიკურად ხელსაყრელი და ეკოლოგიურად მიზანშეწონილი.

ბოლო ათასწლეულში გაიზარდა ინტერესი მცენარეთა დაავადებებთან ბრძოლის ბიოლოგიური მეთოდების შემუშავებასა და დანერგვისადმი, რაც ემყარება ბაქტერია - ანტაგონისტების, სპეციფიკური ფერმენტების, ფიტონციდების და სხვა ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების გამოყენებას (Ayman... 2014). დღესდღეობით ცნობილია, მცენარეთა ბაქტერიოზების კონტროლის სხვადასხვა სტრატეგია, როგორცაა, რეზისტენტული ჯიშის გამოყენება, თესლბრუნვა, დაავადებისადმი გამძლე სარგავი მასალის შერჩევა (Guo... 2010), მიკრობული ანტაგონისტები (Lemessa and Zeller 2007) და სხვა კულტურული პრაქტიკა. თუმცა, დაავადების მთლიანად მართვა და მასპინძელი მცენარეთა დაცვა ინფიცირებისგან, ჯერ ისევ მკვლევარების ოცნებაა, აქედან გამომდინარე აუცილებელია, ალტერნატიული გზების მოძიება და მათი დანერგვა პრაქტიკაში.

ცნობილია, რომ მცენარეები ახდენენ რთული ქიმიური შედგენილობის ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებების პროდუცირებას, რომლებიც წარმოადგენს თვით მცენარის იმუნიტეტის ერთ-ერთ ფაქტორს და მათი ანტიმიკრობული მოქმედება სპობს, ან აფერხებს პათოგენური მიკროორგანიზმებისა და უმარტივესი ერთუჯრედიანების (ზოგჯერ მრავალუჯრედიანების) განვითარებას. მცენარეთა ექსტრაქტების და ფიტოქიმიკატების, გამოყენება, როგორც ანტიმიკრობული საშუალება, ცნობილია უახლოეს წარსულში განხორციელებული კვლევებით, რომელიც მოიცავდა სამედიცინო მცენარეებიდან ანტიმიკრობული აქტივობის ნივთიერებების მიღებას (Venkanna... 2012). მცენარეთა ფიტონციდების, იგივე „ბუნებრივი ანტიბიოტიკების“, ანტიმიკრობული მოქმედება გამოყენებულია ეკოლოგიაში, მედიცინაში და სოფლის მეურნეობაში.

ანტიმიკრობული აგენტი, რომელიც მიღებულია მცენარეებიდან, წარმოადგენს მეორეული მეტაბოლიზმის პროდუქტს, რომელიც იცავს მცენარეს პათოგენის მოქმედებისგან (Macdonald, 2008). მცენარის ანტიმიკრობული აქტივობის პროდუქტები, როგორცაა მცენარეთა ექსტრაქტები და ეთერზეთები, რომლებიც არ არის ტოქსიკური და სპეციფიკურია მათი მოქმედება, მკვლევარებისათვის სათანადო ყურადღების ქვეშაა, რადგან ისინი უსაფრთხოა და ეკონომიკურად იაფი (Macdonald,

2008; Rhouma... 2009). ამიტომ, შეიძლება გამოყენებულ იქნას, როგორც ალტერნატიული მასალა ბაქტერიოციდული პტრაპარატების წარმოებაში.

In vitro ცდებით ნაჩვენებია, ამა თუ იმ მცენარის ექსტრაქტის მოქმედების ეფექტი *R. solanacearum* წინააღმდეგ. მაგ. მცენარე *Morinda citrifolia* -ს ფოთლების აცეტონიანი ექსტრაქტი წარმოქმნის 6 შტამზე 24 ± 0.44 მმ - იან, ხოლო 12 შტამზე 23 ± 0.25 ინჰიბირების ზონას. იგივე მცენარის ქლოროფორმიანი ექსტრაქტი კი ახდენს პათოგენის კულტურაზე 26.0 ± 0.25 და 22.3 ± 0.26 მმ-ის ზომის, ზონის ინჰიბირებას (Jai Sunder... 2011). *In vitro* და *in vivo* კვლევებში დადასტურებულია ანტიმიკრობული პოტენციური ზოგიერთი სახეობის მცენარეების, როგორცაა: ნიორი, *Datura stramonium* -მთვარის ყვავილი, *Nerium oleander* -ოლეანდრა (Cowan 1999; El-Ariqi 2005). ფოთლების ცივი და ცხელი წყლით დამუშავებისას მიღებული ექსტრაქტის მოქმედების ეფექტის შესწავლისას *R. solanacearum* - ით გამოწვეული პომიდორის ბაქტერიული ჭკნობის წინააღმდეგ, ცდებმა გამოავლინა რომ, ცივი წყლით მიღებული ექსტრაქტი უფრო მეტად თრგუნავდა პათოგენის ზრდას, ვიდრე ცხელი წყლით მიღებული ექსტრაქტი. გარდა ამისა, ნიორის ექსტრაქტს ქონდა უფრო მეტი ეფექტურობა, დანარჩენ მცენარეებთან შედარებისას (Abo-Elyousr... 2009). აღნიშნულ მცენარეთა ექსტრაქტები წარმატებით გამოიყენება მცენარეთა სხვა პათოგენების წინააღმდეგაც, როგორცაა *Xanthomona campestris* pv. და სხვა (Sateesh... 2004).

თავი 2. მასალები და მეთოდები

2.1. კვლევის ობიექტი

კვლევის ობიექტს წარმოადგენს საქართველოს სხვადასხვა გეოგრაფიულ ზონაში გავრცელებული მცენარეთა ბაქტერიული სიდამპლით დაავადებული ნიმუშებიდან გამოყოფილი მიკროორგანიზმი *Ralstonia solanacearum*-ის 101 იზოლატი (იხილეთ დანართი 1). აგრეთვე დიდი ბრიტანეთის სურსათისა და გარემოს კვლევის ცენტრში (FERA) <http://fera.co.uk/>, არსებული ნაციონალური კოლექციის მცენარეთა პათოგენური ბაქტერიათა შტამები (ცხრილი 4), რომლებიც სრულად არის სექვენირებული და შესწავლილი. გარდა ამისა, კვლევაში ვიყენებდით გენბანკში არსებულ *R. solanacearum* - ის რეფერირებულ შტამებს, რომლებიც სხვადასხვა ფილოტიპურ ჯგუფს ეკუთვნის (იხილეთ დანართი 2).

ცხრილი 4

კვლევაში გამოყენებული *R. solanacearum*-ის NCPPB სტანდარტული შტამების სია

#	<i>R.solanacearum</i> რეფერენტ შტამები	მასპინძელი მცენარე	ქვეყანა	რასა/ბიოვარი	ფილოტიპი
1	NCPPB 3996	<i>Solanum lycopersicum</i>	პერუ	R1B3	I
2	NCPPB 4008	<i>Arachis hypogaea</i>	ჩინეთი	R1B4	I
3	NCPPB 325	<i>Solanum lycopersicum</i>	შშ	R1B1	II
4	NCPPB909	<i>Solanum tuberosum</i>	ეგვიპტე	R3B3	II
5	NCPPB 3857	<i>Solanum tuberosum</i>	დიდ ბრიტანეთი	R3B2	II
6	NCPPB 4156	<i>Solanum tuberosum</i>	ნიდერლანდები	R3B3	II
7	NCPPB 4161	<i>Solanum tuberosum</i>	გერმანია	R3B3	II
8	NCPPB4211	<i>Pelargonium</i>	კენია	R3B2	II

		<i>hortorum</i>			
9	NCPPB4214	<i>Soil</i>	კენია	B3/ND	III
10	NCPPB3725	<i>Ralstonia sp. (blaad disease bactrum)</i>	West Java	BDB	IV

მუშაობის პროცესში გამოყენებული იყო პირველადი ფაგური ნარევეები და ფაგური კლონები.

2.2. კვლევის ჩატარების ადგილი და პირობები

კვლევების ძირითადი ნაწილი სრულდებოდა ლაბორატორიულ პირობებში, ხოლო ნაწილი ითვალისწინებდა საველე და სათბურის პირობებს. ექსპედიციური გამოკვლევები მოიცავდა 3 გეოგრაფიულ ზონას, 12 რაიონს: 1. კოლხეთის დაბლობი - ქობულეთი, ჩხორუწყო, სამტრედია, თერჯოლა; 2. მესხეთ - ჯავახეთი - ბორჯომი, ახალციხე, ახალქალაქი, ნინოწმინდა, ადიგენი; 3. ზემო აჭარა - ხულო, ქედა, შუახევი. ნათესების გამოკვლევას ვაწარმოებდით მცენარეების განვითარების სხვადასხვა სტადიაზე - ყვავილობის პერიოდში და მოსავლის აღების დროს, აგრეთვე ვსწავლობდით შენახულ კარტოფილს საცავებში.

2.3. კვლევის პროცესში გამოყენებული საკვები ნიადაგები და ძირითადი რეაქტივები

CPG - კაზეინპეპტონიანი არე (ერთ ლიტრზე)

პეპტონი-10 გ/ლ;

კაზეინის ჰიდროლიზატი-1.0 გ/ლ;

გლუკოზა -5.0 გ/ლ;

აგარი -15გ/ლ;

pH= 7.4±0.2

ავტოკლავირება მიმდინარეობს 121 °C ზე და 1,5 ატმოსფერულ წნევაზე 20-30 წთ -ის განმავლობაში (Kelman, 1954).

TTC -2, 3, 5- ტეტრაზოლიუმისანი არე - (ერთ ლიტრზე)

პეპტონი- 10 გ/ლ;

კაზეინის ჰიდროლიზატი - 1.0 გ/ლ;

გლუკოზა - 5.0 გ/ლ;

აგარი -15 გ/ლ;

pH = 7.4±0.2

ავტოკლავირება მიმდინარეობს 121 °C ზე და 1,5 ატმოსფერულ წნევაზე 20-30 წთ -ის განმავლობაში. სტერილიზაციის შემდეგ ფინჯნებში ჩამოსხმამდე არეს ემატება 1% - იანი 2, 3, 5- ტრიფენოლ ტეტრაზოლიუმის ქლორიდი (Kelman, 1954).

მოდულირებული SMSA არე - (ერთ ლიტრზე)

პეპტონი- 10 გ/ლ;

კაზეინის ჰიდროლიზატი - 1.0 გ/ლ;

გლიცეროლი - 5მლ;

აგარი - 17გ;

pH = 6.5-7.0

ავტოკლავირება მიმდინარეობს 121 °C ზე და 1,5 ატმოსფერულ წნევაზე 20-30 წთ -ის განმავლობაში. ავტოკლავირების შემდეგ ნიადაგის 55°C -მდე გაციებისას ემატება 5მლ 1% - იანი 2, 3, 5- ტრიფენოლ ტეტრაზოლიუმის ქლორიდის ხსნარი. ხსნარი იფილტრება და ავტოკლავირება მიმდინარეობს 5 წთ. 121°C -ზე. ინახება 4°C - ზე ან იყინება. ასევე ემატება: ქლორამპენიკოლი - 5მგ; ციკლოჰექსამიდი - 100მგ; პენიცილინი - 0,5მგ; პოლიმიქსინ B სულფატი - 100მგ; კრისტალის ლურჯი - 5მგ (Elphinstone ... 1996).

ჰიუ-ლეიფსონის გლუკოზიანი არე

პეპტონი - 2 გ/ლ;

საფუარის ექსტრაქტი- 0.5 გ/ლ;

ნატრიუმის ქლორიდი - 20გ/ლ;

გლუკოზა - 10გ/ლ

ბრომკრეზოლის მეწამული - 0.015გ/ლ;

აგარი - 3გ/ლ;

pH= 7.4±0.2;

მზა არე ჩამოსხმება სინჯარებში 5 მლ მოცულობით;

სტერილიზაცია 121°C-ზე 20 წთ.

თითოეული იზოლატისთვის გამოიყენება ორი სინჯარა, რომელთაგან ერთს ჰაერისგან იზოლირების მიზნით სტერილურად უკეთდება ვაზელინის ზეთის თხელი ფენა. დადებითი პასუხი - ფერის ცვლილება მეწამულიდან ყვითელში (Hugh, R. and E. Leifson, 1953).

Millipore-ის მემბრანული სასტერილიზაციო ფილტრები, ფორების ზომით - 0.45 და 0.22µm

ცხრილი 5

კვლევის პროცესში გამოყენებული პრაიმერები:

სახელწოდება	სექვენსი(5'-3')
RS-F1	GCATGCCTTACACATGCAAGTC
RS-R1	GGCACGTTCCGATGTATTACTCA
RS-P1	AGCTTGCTACCTGCCGGCGAGT
B2-F1	TGGCGCACTGCACTCAAC
B2-R1	AATCACATGCAATTCGCCTACG
B2-P2	TTCAAGCCGAACACCTGCTGCA
Endo -F	ATGCATGCCGCTGGTCGCCGC
Endo-R	GCGTTGCCCGGCACGAACACC
OLI1	GGG GGT AGC TTG CTA CCT
Y2	CCC ACT GCT GCC TCC CGT

მეთოდები

2.4. *Ralstonia solanacearum* - ით გამოწვეული ბაქტერიული

სიდამპლის გავრცელების ინტენსივობის და არეალის დადგენა

ბაქტერიული სიდამპლის გავრცელების ინტენსივობის და არეალის დადგენის მიზნით, გამოკვლევები ტარდებოდა წინასწარ განსაზღვრული გეგმისა და მარშრუტის შესაბამისად, მცენარეთა ვეგეტაციის მანძილზე. მინდორში ნიმუშების შეგროვებას ვაწარმოებდით შესაბამისი ევროდირექტივის (Directive 2006/63/EC) მიხედვით. ერთი ნიმუში მოიცავდა 200 -მდე გამოსაკვლევ ტუბერს ან მცენარის ინფიცირებულ ნაწილს, რომელსაც ვაგროვებდით დაახლოებით 2 ჰექტარზე. აღებულ ნიმუშიდან ინფიცირებული ქსოვილის ნაწილს ვათავსებდით 5-10 მლ-ის შემცველ სტერილურ წყლიან ჭურჭელში (რაც უზრუნველყოფდა პათოგენის სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნებას ტრანსპორტირების დროს), რომელზეც კეთდებოდა ეტიკეტირება (მასპინძელი მცენარე, ჯიში, ნიმუშის აღების ადგილი, თარიღი, მცენარის განვითარების ფაზა, დაავადების გავრცელების და განვითარების ინტენსივობა, ნიმუშის შემგროვებლის ან ფერმერის ვინაობა). ლაბორატორიაში მოტანისას ვახდენდით შეგროვებული ნიმუშების აღრიცხვას კონვერტზე მითითებული ინფორმაციის შესაბამისად.

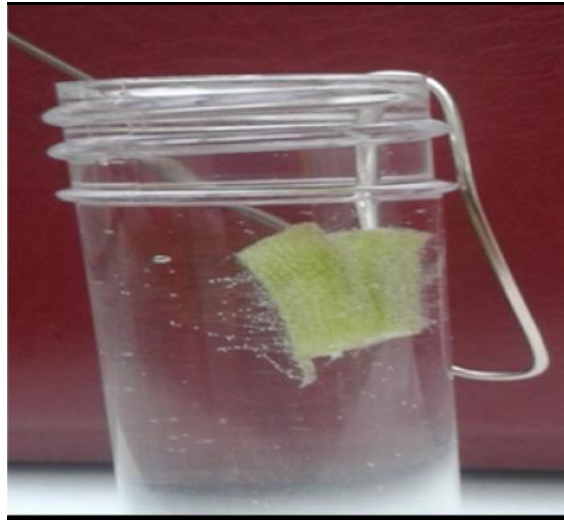
დაავადების გავრცელება გამოითვლებოდა შემდეგი ფორმულით:

$$\text{დაავადების გავრცელება\%} = \frac{\text{დაავადებულ მცენარეთა რიცხვი ყოველ მინდორში}}{\text{გამოსაკვლევ მცენარეთა სრულ რიცხვთან X100}}$$

2.5. *Ralstonia solanacearum* - ის გამოყოფა და იდენტიფიკაცია

ბაქტერიული სიდამპლის დიაგნოსტიკის მიზნით მინდვრის პირობებში ვიყენებდით აპრობირებულ მეთოდს (Shew...1991), რომლის მიხედვით, ინფიცირებული მცენარის ღეროს გადანაჭერის, წყლიან ჭურჭელში მოთავსებისას

ადგილი ქონდა ღეროდან ბაქტერიული ექსუდატის გამოდინებას წყალში. ეს მოვლენა, ნათლად ჩანდა ჩვენი ცდის შემთხვევაშიც (სურათი 3).



სურათი 3. ბაქტერიული ექსუდატების გადმოდინება წყალში დაავადებული პომიდორის ღეროს გადანაჭერიდან

2.5.1. *R. solanacearum*-ის იდენტიფიცირება იმუნოდიაგნოსტიკური ტესტის გამოყენებით

იმუნოდიაგნოსტიკური მეთოდით ბაქტერიული სიდამპლის გამომწვევის იდენტიფიცირებას ვახდენდით „ჯიბის ტესტის“ (Pocket Diagnostic[®]) საშუალებით საველე პირობებში, რომელიც წარმოებულია - დიდ ბრიტანეთში (Forsite Diagnostics, Sand Hutton, York YO41 1LZ, UK.; WWW. Forsitediagnosics.com). ტესტის პროტოკოლის მიხედვით, დაავადებული მცენარის ნაწილებს ვაქუცმაცებთ და ვყრიდით მზა საექსტრაციო ბუფერის ხსნარში. 5 წთ - ის განმავლობაში, ხელის სწრაფი მოძრაობით ვახდენდით მექანიკურ ჰომოგენიზაციას და შემდეგ მიღებულ ჰომოგენურ სითხეს, პიპეტის საშუალებით ვაწვეთებდით სადიაგნოსტიკო ფირფიტაზე, შედეგების აღრიცხვა ხდებოდა 5-10 წთ.-ის შემდეგ.

2.5.2. კლასიკური მიკრობიოლოგიური მეთოდებით

დაავადებულ მცენარეთა ქსოვილებიდან, ნიადაგიდან ბაქტერიათა სუფთა კულტურის გამოყოფა და იდენტიფიცირება ხდებოდა, სტანდარტული ბაქტერიოლოგიური მეთოდებით: ნახევრად-სელექტიურ არეებზე (კელმანის ტრიფენოლ ტეტრაზოლიუმის არე - TZC, SMSA და სხვ.) კულტივირებისა და თანამედროვე საიდენტიფიკაციო ტესტ-სისტემების საშუალებით. ფიტოპათოგენური ბაქტერია *R. solanacearum* - ით ინფიცირებული მცენარის ნაწილები (მარღვოვანი ქსოვილი) ირეცხებოდა სტერილური წყლით და თავსდებოდა სანაყში. სტერილური წყლის მცირე რაოდენობის დამატებით ხდებოდა ჰომოგენიზაცია, ან მცენარის სიმპტომურ ნაწილს ვათავსებდით 100 მლ სტერილურ წყალში, სადაც ვაჩერებდით 5 – 10 წთ, ამდროს ბაქტერიული ექსუდატები გამოედინებოდა წყალში და შემდეგ, ბაქტერიული მარყუჟით ხდებოდა კულტივირება. მცენარეთა ნაწილებს, რომელთაც მკვეთრად გამოხატული ჰქონდათ დაავადების სიმპტომები, მაშინ პათოგენის იზოლირებას ვახდენდით ნახევრად-სელექტიურ არეზე (კელმანის ტრიფენოლ ტეტრაზოლიუმის არე- TZC), 24-48 სთ-იანი ინკუბაციისას, 28°C -ის პირობებში ხოლო, ლატენტურად ინფიცირებული მცენარეთა მატერიალიდან და ნიადაგიდან პათოგენის გამოსაყოფად საჭირო იყო მოდიფიცირებული სელექტიური საკვები ნიადაგი (SMSA). კოლონიები (კელმანის ტრიფენოლ ტეტრაზოლიუმის - TZC და SMSA არეზე) იყო, არარეგულარული, ლორწოვანი, თეთრი, ვარდისფერი ცენტრით (Kelman, 1954).

2.5.3. ჰიპერმგრძობელობითი რეაქცია

ჰიპერმგრძობელობით რეაქციის განსაზღვრისათვის, ვატარებდით ჰიპერმგრძობელობითი რეაქციის ტესტს. საკვლევი იზოლატების 24სთ-იანი კულტურებიდან ვამზადებდით სუსპენზიას, და ვახდენდით 1მკლ ინოკულიუმის ინექციას თამბაქოს ფოთლის მარღვოვან ქსოვილში. კონტროლად ვიყენებდით გამოხდილ წყალს. 24-48სთ - ის შემდეგ მცენარეს

აღნიშნებოდა საპასუხო რეაქცია, რაც გამოიხატებოდა მცენარის ქსოვილის ქლოროზით და ნეკროზის სახით ინექციის ადგილებში (Klement...1964).

2.6. *R. solanacearum*-ის ბიოქიმიური მახასიათებლების შესწავლა

Ralstonia solanacearum-ის ფენოტიპური მახასიათებლების შესასწავლად გამოყენებული იყო სხვადასხვა ბიოქიმიური ტესტები.

KOH – ის ტესტი : ბაქტერიოლოგიური მარყუჭით ვილებდით ბაქტერიის 24სთ–იან კულტურას და ვაკეთებდით ნაცხს სასაგნე მინაზე. ვაწვეთებდით 3%-იან KOH –ის წვეთს და ვაკვირდებოდით ლორწოს წარმოქმნას (Suslow... 1982).

ოქსიდაზა ტესტი: ეს ტესტი გამოიყენება, როგორც წესი ფსეუდომონადის ოჯახის დიფერენციისათვის სხვა ტიპის ჩხირებისაგან. ვატარებდით *R. solanacearum*-ის ახალგაზრდა კულტურაზე. ჩვენს კვლევებში ვიყენებდით „როტიტესტის ოქსიდაზა სტრიპებს“ - Rottitest Oxidase strips, მწარმოებელი კომპანია (Rottitest Bio Analysis; Art-Nr. 8469.1), ეს არის მზა ტესტერი, რომლის ერთი ბოლო წინასწარ შეიცავს ოქსიდაზა რეაგენტს (1%-ტეტრა-მეთილ -ფენილ დიამინ დიჰიდროქლორიდი). ბაქტერიული კულტურა დაგვქონდა ოქსიდაზა ტესტერზე მიკრობიოლოგიური, ერთჯერადი პლასმასის მარყუჭით და ვაკვირდებოდით 10-60 წამი (Hossain... 2007).

კატალაზა ტესტი: ვატარებდით ახალგაზრდა კულტურებზე (18-24სთ). 3%-იან წყალბადის ზეჟანგს (H₂O₂) ვაწვეთებდით სტერილურ მინის სასაგნე დაფაზე, რომელშიც ბაქტერიული მარყუჭით შეგვქონდა ინიკულიუმი. შევურევდით და ვაკვირდებოდით ბუშტების წარმოქმნის პროცესს (Schaad, 1980).

გლუკოზის ფერმენტაცია/ოქსიდაცია. ტესტი გამოიყენება აერობულ და ანაერობულ პირობებში შაქრებიდან მჟავას წარმომქმნელ გრამ-უარყოფითი ბაქტერიების საიდენტიფიკაციოდ. ჰიუ-ლეივსონის გლუკოზიან ნიადაგის ორ სინჯარაში(pH 7.0-7.1) ყოველ იზოლატისათვის ჩხვლეტით ვახდენდით ჩათესვას. ერთ სინჯარას ვუკეთებდით სტერილური მინერალური ზეთის სახურავს, რათა შეგვექმნა ანაერობული პირობები. დადებითი პასუხის დეტექცია ხდებოდა ფერის

ცვლილებით მწვანედან ყვითელში, რაც გამოწვეული იყო ნახშირწყლებიდან მჟავის წარმოქმნით (Hugh, R. and E. Leifson, 1953).

„ლევან“ ტესტი - „ლევან“ ანუ პოლიფრუქტოზა არის ექსტრაცელულარული ბაქტერიული პოლისაქარიდი (ბეტა - 2,6,-1 დაკავშირებული ფრუქტანთან). მრავალი ბაქტერია, მათ შორის *R. solanacearum* -ის, 5% -იან საქაროზის შემცველ პეპტონიან ნიადაგზე ზრდისას, ექსტრაცელულარული ფერმენტების საშუალებით საქაროზიდან წარმოქმნიან „ლევან“ -ს, რაც გამოიხატებოდა გამორჩეული, გუმბათოვანი და მრგვალი კოლონიების წარმოქმნით. „ლევან“ -ის წარმოქმნა დამახასიათებელია, აგრეთვე ნიადაგის სხვა ბაქტერიებისათვის (Ghaly... 2007).

ტოლერანტობა NaCl -ის მიმართ. 1%-იან და 2%-იან NaCl-ის შემცველ საკვებ არეში შეგვქონდა ბაქტერიის ინოკოლიუმი და ვაკვირდებით ზრდას 24 სთ –იანი ინკუბაციისას 28°C –ის პირობებში.

ზრდა 41 °C -ის და 4°C -ის ტემპერატურის პირობებში. მიკროორგანიზმი *Ralstonia solanacearum* აღნიშნულ ტემპერატურებზე არ იზრდებოდა (Hayward, 1964).

2.6.1. ბიოვარების და რასების დადგენა

ბიოვარების დადგენა ხდება სხვადასხვა ნახშირწყებისა და სპირტების მოხმარების მიხედვით. ნახევრად მყარ ბაზალურ არეს ვათბობდით წყლის აბაზანაზე 70 ° C, და ვუმატებდით ნახშირწყლების: ლაქტოზის, მალტოზის, ცელობიოზის, მანიტოლის, სორბიტოლის და დულციტოლის 10% –იანი ხსნარის 10მლ - ს და ვურევდით კარგად. თითოეული სატესტო ტუბი შევსებული იყო 5მლ ნიადაგით, რომელიც ინახებოდა ოთახის ტემპერატურაზე. საკონტროლო სატესტო ტუბებს ემატება 10 მლ სტერილური დისტილირებული წყალი, ნაცვლად შაქრების ხსნარისა. მზადდებოდა 48 სთ–იან კულტურები და ვახდენდით შეტანას ბაქტერიული მარყუჟით სატესტო ტუბებში. ვაკვირდებოდით 2, 7 და 14 დღე 28°C –ის პირობებში ინკუბაციას. დადებითი შედეგის შემთხვევაში ინდიკატორი იცვლიდა ფერს (Hayward... 1983).

2.7. *R. solanacearum* - ის პათოგენობის შესწავლა

პათოგენობის ტესტები ტარდებოდა სათბურის პირობებში - პომიდორის, კარტოფილის, წიწაკის ახალგაზრდა მცენარეებზე (როდესაც მცენარე იმყოფება სამი ჭეშმარიტი ფოთლის ფაზაში). აღნიშნული მცენარეთა ჩითილები ირგვებოდა სტერილური ნიადაგიან ქოთნებში და შემდეგ ტარდებოდა ინოკულაცია, 24სთ –იანი კულტურის სუსპენზიის 20 ml-ის ინექციით. სათბურში ინოკულირებული მცენარეთა დაავადების განვითარებისათვის იქმნებოდა შესაბამისი პირობები $28 \pm 4^{\circ}\text{C}$ ტემპერატურა, 80- 90% ტენიანობა და ბუნებრივი დღის სინათლე. მცენარეები ირწყვებოდა ყოველდღე, გარდა ინოკულაციის წინა დღისა პათოგენობას გამოწმობდით კოხის პოსტულატების მიხედვით (EU, 1998; Denny & Hayword, 2001).

მცენარეთა ბაქტერიული სიდამპლის სიმპტომებზე დაკვირვებას ვახდენდით ყოველდღე 21 დღის განმავლობაში. დაავადების ხარისხის შეფასება ხდებოდა ბალებით ვინსტისა და კელმანის მიერ მოწოდებულ შკალის მიხედვით (Winstead and Kelman 1952).

დაავადების განვითარების რეიტინგის გამოსახვა ბალებით:

0=არახასიათებს ლპობის ნიშნები

1=25%დაავადებული

2=50%დაავადებული

3=75%დაავადებული

4= 100% სრულიად დაავადებული

დაავადების ინდექსი (DI) გამოითვლება ინოკულაციიდან 21 დღის შემდეგ, ფორმულით:

$$DI = \left[\sum (n_i \times v_i) \div (V \times N) \right] 100$$

დაავადების ინდექსი = {(მცენარეთა რიცხვი, რომელიც შეფასებულია, მცენარეთა დაავადების რეიტინგულ სკალაზე “0”×0) +(მცენარეთა რიცხვი, რომელიც შეფასებულია, მცენარეთა დაავადების რეიტინგულ სკალაზე “1”×1) + (მცენარეთა რიცხვი, რომელიც შეფასებულია, მცენარეთა დაავადების რეიტინგულ სკალაზე “2”× 2) + (მცენარეთა რიცხვი, რომელიც შეფასებულია, მცენარეთა დაავადების

რეიტინგულ სკალაზე “3”×3) + (მცენარეთა რიცხვი, რომელიც შეფასებულია, მცენარეთა დაავადების რეიტინგულ სკალაზე “4”×4)} / გამოსაკვლევ მცენარეთა სრულ რიცხვთან *4).

დაავადების ინდექსის მნიშვნელობის საფუძველზე, ბაქტერიული სიდამპლის მიმართ, ხდებოდა მცენარეთა რეზისტენტობის დონის გამოვლენა. რომლის მიხედვითაც შტამები იყოფოდა სამ ჯგუფად: H - მაღალვირულენტური, როცა დაავადების ინდექსი = 70-100% -ია; M - საშუალოდ ვირულენტური, დაავადების ინდექსი = 41-69% და L - დაბალ ვირულენტური, დაავადების ინდექსი = 40%

2.8. *R. solanacearum*-ის შტამების შენახვა სხვადასხვა მეთოდით

მიკროორგანიზმთა შენახვის მთავარი მიზანია, მათი ცოცხლად, მორფოლოგიური, ფიზიოლოგიური ან გენეტიკური ცვლილებების გარეშე, შედგომში საკვლევად თუ სასწავლო პროცესში გამოყენების მიზნით. ჩვენს შემთხვევაში, ფიტოპათოგენური ბაქტერიის *R. solanacearum*-ის კულტურათა შენახვა ხდებოდა სხვადასხვა მეთოდებით:

- ოთახის ტემპერატურაზე დისტილირებულ წყალში: ერთეული კოლონიები მყარ ნიადაგზე მიღებული სუფთა კულტურიდან გადაითესებოდა ზემოთ აღწერილი მეთოდით(იხ. 2.5.2. თავი) კაზეინ - პეპტონიან აგარზე, შემდგომი 48სთ-იანი ინკუბაციით 28°C-ზე. შემდეგ, ხდებოდა ბაქტერიული კოლონიების გადატანა 1.5 მლ-იან ეპენდორფის სინჯარებში 1 მლ სტერილურ, დისტილირებულ წყლის შემცველობით და ინახებოდა ოთახის ტემპერატურაზე.

- ხანგრძლივი დროით, ბაქტერიული შტამები ინახებოდა დაცერებულ აგარზე მინერალური ზეთის ქვეშ ან, ლიოფილიზებულ მდგომარეობაში.

შტამების სიცოცხლისუნარიანობა, სისუფთავე და სტაბილურობა მოწმდებოდა შენახვამდე და მის შემდეგ (გარკვეული პერიოდულობით).

2.9. *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატების გენეტიკური იდენტიფიკაციისათვის გამოყენებული მოლეკულური კვლევის მეთოდები

ფიტოპათოგენურ ბაქტერიათა ტიპირების მრავალი მოლეკულური მეთოდი არსებობს, რომლებიც წარმატებით გამოიყენება *R. solanacearum* - ის იდენტიფიკაციასა და გენეტიკური მრავალფეროვნების კვლევაში.

მცენარეთა ქსოვილებიდან, ნიადაგიდან, წყლიდან და სხვა საეჭვო, ინფიცირებული მასალიდან, შესაძლებელია დაავადების გამომწვევი პათოგენის სწრაფი ტესტირება პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციით (პჯრ). სავარაუდო მიკროორგანიზმის იდენტიფიცირება შესაძლებელია, როგორც დაავადებული ნიმუშიდან გამოყოფილ სუფთა კულტურაში, ისე საწყის მასალაში. გენომის სრულყოფილად შესწავლისას გამოიყენება სექვენირება.

R. solanacearum-ის გენომის კონკრეტული უბნის იდენტიფიკაციისათვის გამოიყენებოდა პრაიმერები, რომლებიც სპეციფიკურია გამოსაკვლევი უბნის მიმართ. ეს მეთოდები შესაძლებელია მოიცავდეს სტანდარტულ ანუ საყოველთაოდ აღიარებულ სახეობა სპეციფიკურ პოლიმერაზულ ჯაჭვურ რეაქციას (პჯრ-ს) და პოლიმერაზულ ჯაჭვურ რეაქციას რეალური დროში - Real-time PCR.

2.9.1. *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატების იდენტიფიკაცია პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მეთოდით

პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მეთოდი გამოიყენება როგორც წესი, დაავადების ეპიდემიოლოგიურ კვლევაში. აღნიშნული მეთოდი რეკომენდებულია ევროპაში 2006/63/CE (amending EC directives 98/57/EC & 95/4/EC) - მითითების თანახმად. ამ ტესტის მთავარი უპირატესობა არის ხანმოკლე დრო, რასაც დიდი მნიშვნელობა ენიჭება საკარანტინო ლაბორატორიებში. მეთოდი არის მაღალ მგრძობიარე და შესაძლებელია ლატენტურად ინფიცირებული (10³ cells ml⁻¹) კარტოფილის ტუბერების იდენტიფიცირება (Seal... 1992). პჯრ ანალიზი მოიცავს

სამ ეტაპს: დნმ-ის გამოყოფა დაავადებული ნიმუშიდან; დნმ-ის სპეციფიური ფრაგმენტების ამფლიპიკაცია; ამპლიფიცირებული პროდუქტის აღმოჩენა (დეტექცია).

R. solanacearum- ის იზოლატებიდან დნმ-ის გამოყოფა ხდებოდა სხვადასხვა ნაკრებით. დაავადებული ნიმუშის სათანადო დამუშავების შემდეგ უჯრედული მასალა განიცდიდა ლიზისს, სცილდებოდა ცილოვანი და პოლისაქარიდების ფრაქციები, ხდებოდა დნმ-ს მიღება, რომელიც თავისუფალი იყო ინჰიბიტორებისაგან. ბაქტერიის დნმ-ის 16s rRNA გენის უბანის ამპლიფიკაციისათვის გამოიყენება განსაზღვრული თანმიმდევრობის მქონე პრაიმერები (OLI1:5' -GGG GGT AGC TTG CTA CCT GCC – 3' /Y2:5' - CCC ACT GCT GCC TCC CGT AGG AGT -3'), რომელსაც უწოდებენ „უნივერსალურ“ პრაიმერების წყვილს (Patrik... 2000). აღნიშნულ სამიზნე უბანით *Ralstonia* განსხვავდება სხვა ბაქტერიებისგან, რადგან 16s rRNA გენი არის ძალიან კონსერვაციული. *R. solanacearum* -ის ამპლიფიცირებული დნმ-ის ფრაგმენტის ზომა იყო - 288 bp. ჩვენს კვლევაში პჯრ ანალიზისას გამოყენებული იქნა შემდეგი ოქმი (Seal...1993).

ცხრილი 6

პჯრ-ის სარეაქციო მიქსი

რეაგენტები	მოცულო ბა	საბოლოო კონცენტრაცია
სტერილური წყალი	17,65 µl	
10X PCR ბუფერი (®) (15 mM MgCl ₂)	2,5 µl	1X (1,5 mM MgCl ₂)
dNTP mix (20 mM)	0,25 µl	0,2 mM
პრაიმერი OLI-1 (20 µM)	1,25 µl	1µM
პრაიმერი Y-2 (20 µM)	1,25 µl	1µM
Taq პოლიმერაზა (5U/µl) (®)	0,1 µl	0,5 U
ნიმუშის მოცულობა	2,0 µl	
საერთო მოცულობა	25 µl	

პჯრ -ის მიმდინარეობის პირობები თერმოციკლერში (TC-412; TECHNE).

1 ციკლი	(i)	2 წუთი 96 °C (სამიზნე DNA -ის დენატურაცია)
35 ციკლი	(ii)	20 სეკუნდი at 94 °C ((სამიზნე DNA -ის დენატურაცია)
	(iii)	20 სეკუნდი 68 °C (პრაიმერების ანელინგი)
	(iv)	30 სეკუნდი 72 °C (გაორმაგება)
1 ციკლი	(v)	10 minutes at 72 °C
	(vi)	hold at 4 °C.

ამპლიფიკაციის შედეგად მიღებული პროდუქტების ვიზუალიზაციას ახდენენ აგაროზის გელზე - ელექტროფორეზის მეთოდით. 1.5%-იან აგაროზის გელს ემატება 0.5მგ/მლ ეთიდიუმ ბრომიდის ხსნარი.

P.S. თერმოციკლერის სხვა მოდელის გამოყენების შემთხვევაში შესაძლებელია (ii), (iii) და (iv) პუნქტების ცვლილება.

2.9.2. *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატების იდენტიფიკაცია რეალური დროის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის- (Real-time PCR) TaqMan® მეთოდით

რეალურ დროში პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (Real-time PCR) პრინციპული სხვაობა სტანდარტულ პჯრ-სგან არის ის, რომ ამ შემთხვევაში, შესაძლებელია ამპლიფიკაციის პროდუქტის რაოდენობრივი რეგისტრაცია, ამპლიფიკაციის მიმდინარეობის დროს. ამპლიკონების დაგროვების კინეტიკა დამოკიდებულია საკვლევი მატრიცის ასლების რაოდენობაზე. ამგვარად,

შესაძლებელია საკვლევი დნმ-სა და რნმ-ს რაოდენობრივი განსაზღვრა (ძნელაძე, 2011; გვ. 30-40).

Real-time PCR შეიძლება გამოვიყენოთ, როგორც რაოდენობრივი, ისე ხარისხობრივი შეფასებისათვის (Oberst... 1998). ეს მეთოდი განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია მცენარეთა ბაქტერიული პათოგენების შტამების გამოსავლენად (Weller... 2000).

Real-time PCR - ის რამოდენიმე განსხვავებული მეთოდი არსებობს. ზოგადად გამოიყენება TaqMan® - ის მეთოდი, რომელიც დაფუძნებულია ფერმენტ პოლიმერაზა 5'-ენდონუკლეაზურ აქტივობაზე. სარეაქციო არეს ემატება დნმ-ზონდი, რომლის შემადგენლობაში შედის ფლუორესცენტული საღებავი და ე.წ. ფლუორესცენციის ჩამქრობი. ფლუორესცენტული საღებავი დაკავშირებულია 5' ბოლოსთან, ხოლო ჩამქრობი 3' ბოლოსთან. 3' ბოლო ასევე შეიცავს ფოსფატურ ჯგუფს. ზონდი უკავშირდება მატრიცულ ნუკლეინის მყავას კომპლემენტარობის პრინციპით. ჩამქრობი შთანთქმავს ფლუორესცენტული საღებავის გამოსხივებას, ხოლო 3' ფოსფატური ჯგუფი აბლოკირებს პოლიმერაზას. რაც მეტი ამპლიფიკაციის პროდუქტი წარმოიქმნება პჯრ-ს მიმდინარეობისას, მით მეტი ზონდი დაუკავშირდება წარმოქმნილ ამპლიკონებს. ელონგაციის სტადიაზე ფერმენტ პოლიმერაზით ხდება დნმ-ის კომპლემენტარული ჯაჭვის დაგრძელება. ფერმენტის ზონდთან მიახლოების შემდეგ იწყება ზონდის დაშლა 5' ნუკლეაზური აქტივობით. ამგვარად, ხდება ფლორესცენტული საღებავისა და ჩამქრობის დაცილება, რაც იწვევს ნათების მომატებას. ნათების რეგისტრაცია ხდება რეალური დროის ამპლიფიკატორით. რაც მეტი ამპლიკონი წარმოიქმნება, მით მეტი გამოსხივების რეგისტრაცია მოხდება (ძნელაძე, 2011; გვ. 38-41).

Real-time PCR სტანდარტულ პჯრ-თან შედარებით არის უფრო მეტად სპეციფიკური და მგრძობიარე, ამპლიკონის ზომა კი უფრო მცირეა ვიდრე სტანდარტულ პჯრ-ის დროს. ამასთანავე, ერთი დღეში შესაძლებელია მრავალი ნიმუშის შესწავლა და გაანალიზება ერთდროულად (Markey ... et al., 2007; Thammakijawat 2006; Ji... 2007; Swanson ... 2007; Ozakman & Schaad, 2003).

ქართული იზოლატების დიაგნოსტიკა მოვახდინეთ რეალური დროის პჯრ-ით, კერძოდ TaqMan® -ის მეთოდის გამოყენებით (Weller... 2000).

ექსპერიმენტები განვახორციელეთ „ABI Prism” (Applied Biosystems”) მიერ წარმოებული ტექნიკით. ნიმუშების გასაანალიზებლად ვიყენებდით 96-ფოსოიანი, ოპტიკურ სარეაქციო ფირფიტას, მისივე ოპტიკური ხუფით. ცხრილი 8 -ში წარმოდგენილია ცდაში გამოყენებული პრაიმერების ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა.

ცხრილი 8

TaqMan®-ის ცდაში გამოყენებული დნმ-ის ზონდი და პრაიმერები

პრაიმერები/დნმ-ის ზონდი	ნუკლეოტიდური მონაკვეთი (5'-3')	საღებავი	სამიზნე
RS-F ¹	GCATGCCTTACACATGCAAGTC	FAM	<i>R. solanacearum</i>
RS-R ¹	GGCACGTTCCGATGTATTACTCA	FAM	
RS-P ¹	AGCTTGCTACCTGCCGGCGAGTG	FAM	
B2-F ¹	TGGCGCACTGCACTCAAC	FAM	<i>R. solanacearum</i> რასა 3 ბიოვარი 2A
B2-R ¹	AATCACATGCAATTCGCCTACG	FAM	
B2-P ²	TTCAAGCCGAACACCTGCTGCAAG	VIC	

5'- ტერმინალურ ბოლოსთან მონიშნულია ნუკლეოტიდი FAM (6-კარბოქსიფლუორესცინი) ფლუორესცენცირებადი საღებავით, 3'-ტერმინალურ ბოლოსთან კი TAMRA (ტეტრამეთილ კარბოქსიოდამინი) ჩამქრობით.

სარეაქციო ნარევის საერთო მოცულობა შეადგენდა 25მკლ-ს. რეაქციის შემადგენელი კომპონენტების კონცენტრაციები და მოცულობები წარმოდგენილია ცხრილი 9 - ში.

ცდაში გამოყენებული სარეაქციო კომპონენტები

კომპონენტები	კონცენტრაციები	მოცულობა (µl)
ბუფერი	10X	2.5
dATP	200 nM	0.5
dCTP	200 nM	0.5
dGTP	200 nM	0.5
dUTP	400 nM	0.5
AmpliTaq Gold DNA polymerase ³	5 U/µl	0.125
MgCl ₂	100mM	3,5
Primer-F	300 nM	0.75
Primer-R	300 nM	0.24
Probe-P ²		0.5
Template	60 µg/µl	1
Sterile distilled water		13,875
Total volume		25

ამპლიფიკაცია მიმდინარეობდა პროგრამირებად „ABI Prism” (Applied Biosystems)-ის თერმოციკლერში (ცხრილი 10).

TaqMan® ცდის პროგრამათა ციკლი

საფეხური	ტემპერატურა	დრო
საფეხური 1	50°C	2 min
საფეხური 2	95°C	10 min
საფეხური 3	95°C	10 s
საფეხური 4	65° C	8 min
საფეხური 5	60° C	1 min
საფეხური 6	3, 4 და 5 საფეხურები მოიცავს 40 ციკლს	

ყოველი ნიმუშისათვის, ფლუორესცენციული გამოსხივების ინტენსივობა იზომებოდა „ABI Prism” (Applied Biosystems) 7500 სექვენსის დეტექტორული სისტემის საშუალებით. სექვენსის აღმოჩენის პროგრამა უზრუნველყოფდა მონაცემთა შეგროვებას და გაანალიზებას. ფლუორესცენციის ინტენსივობა (R_n) ნორმალიზირდებოდა თითოეული რეაქციისათვის. დადებითი სიგნალის შემთხვევაში, მატულობდა ფლუორესცენცირების ინტენსივობა (ΔR_n) და სტატისტიკურად იზრდებოდა ამპლიფიკაციის მაჩვენებელი მრუდი, რომელიც კომპიუტერული პროგრამის უზრუნველყოფით აისახებოდა ეკრანზე, პჯრ-ის მიმდინარეობის პარალელურად. ნიმუშები, რომელთა ფლუორესცენცირების ინტენსივობა ΔR_n აღემატება 0.3 მიიჩნეოდა დადებითად.

2.10. სექვენირებაზე დაფუძნებული მეთოდები

დღეისათვის დნმ-ის სრული გენომის სექვენირებისათვის ახალი თაობის რამდენიმე განსხვავებული ტექნოლოგია გამოიყენება.

დნმ-ის თანმიმდევრობის დასადგენად გამოიყენება Illumina ტექნიკა. სექვენირების ქიმიური კონცეფცია შემუშავებული იქნა ბრუნო კანარისა და სიმონ სარფიას მიერ პარიზის პასტერის ინსტიტუტში (Canard, 13 Oct 1994), რომელიც მოძიებული იქნა 2016 წელს, ხოლო სექვენირების თეორია შეიმუშავეს შანკარ ბალასუბრამანიანმა და დავით კლენერმანმა კემბრიჯის უნივერსიტეტში <http://technology.illumina.com/technology/next-generation-sequencing/solexa>. მეთოდი შეიძლება გამოყენებული იქნას მეტაგენომის, მთელი გენომის თანმიმდევრობის ანალიზისთვის, პატარა რნმ აღმოჩენასა და მეთილირების პროფილირებისათვის, აგრეთვე გენომის მაშტაბით ცილის ნუკლეინის მჟავის ურთიერთქმედების ანალიზისთვის. თუმცა, Illumina სექვენატორის წაკითხვის სიგრძე არ არის ძალიან დიდი (Morozova, 2008). HiSeq ტიპის სექვენატორის საშუალებით კი შეიძლება დაახლოებით 90 bp წონის ფრაგმენტის სიგრძის წაკითხვა (Feng...2015).

Illumina სექვენირების მთელი პროცესი პატარა ზომის ჩიპზე მიმდინარეობს, რომლის მყარ სუბსტრატზე დნმ-ზონდებია მიმაგრებული. თავდაპირველად დნმ-ის ფრაგმენტირებული მოლეკულები სწორედ ამ ზონდებს უკავშირდებიან და ხიდაკების წარმოქმნით ამპლიფიცირდებიან ისე, რომ კლონური ფრაგმენტების ლოკალურ კოლონიებს ქმნიან. შემდეგ ეტაპზე სარეაქციო არეს ემატება პრაიმერი და ოთხი განსხვავებული შექცევადი ფლუორესცენტული ტერმინატორული ნუკლეოტიდი (A, C, T, G). ციკლის დასრულების შემდეგ ზედმეტი ნუკლეოტიდები გამოირეცხება. ლაზერული კამერა აფიქსირებს ახალ მიმაგრებული ნუკლეოტიდის ფლუორესცენტული ზონდის ნათებას. ყოველი ციკლის შემდეგ დნმ მატრიცაზე მხოლოდ ერთი ნუკლეოტიდური ფუძის მიმატება ხდება. ყოველი ციკლის წინ 3' ბოლოზე მიმაგრებული ფლუორესცენტული ზონდები ქიმიური დამუშავებით შორდება და ახალი ნუკლეოტიდის მიერთების საშუალებას იძლევა. პროცესი გრძელდება მანამ, სანამ დნმ-ის მონაკვეთი სრულად არ წაიკითხება. რეაქციის ბოლოს ასობით მილიონი წაკითხული თანმიმდევრობა სპეციალური კომპიუტერული პროგრამებით მუშავდება და ხდება საბოლოო სრული ჯაჭვის აწყობა, რომელიც ასობით ურთიერთგადაფარვადი ფრაგმენტების ანალიზის შედეგია. გარდა სრული გენომის სექვენირებისა, Illumina ტექნოლოგია ხშირად გამოიყენება ისეთი რთული გენომური უბნების წასაკითხად, როგორცაა ჰომოპოლიმერები და განმეორებადი თანმიმდევრობები. რაკი ყოველი ციკლის განმავლობაში ოთხივე ნუკლეოტიდია წარმოდგენილი, ამგვარი ბუნებრივი კონკურენცია ამცირებს შეცდომების ალბათობას. ხოლო თითო-თითო ნუკლეოტიდის წაკითხვის შედეგად მიღებული თანმიმდევრობა უშეცდომო და სარწმუნო მონაცემების გარანტი <http://www.illumina.com/>.

2.10.1. ენდოგლუკონაზას გენის სექვენირება

ფილოგენეტიკური კვლევის საფუძველია როგორც ერთი რომელიმე გენის ასევე მთელი გენომის სექვენსი, რომელიც გამოყენებულ იქნა მოცემულ კვლევაში

R. solanacearum შტამებს შორის, გენეტიკურ მრავალფეროვნების დადგენის მიზნით. ენდოგლუკონაზა გენის სექვენირება ხდება დაახლოებით 750 ფუძის ღონეზე (Fegan and Prior, 2006). ეს არის ტიპური მეთოდი, რომელიც შეიძლება წარმატებულად იქნეს გამოყენებული *R. solanacearum*-ის შტამებს შორის ფილოგენეტიკური კავშირის შესასწავლად.

ენდოგლუკონაზა გენის იდენტიფიკაციისათვის გამოვიყენეთ პრაიმერების წყვილი Endo-F (5'-ATGCATGCCGCTGGTCGCCGC-3') და Endo-R (5'-GCGTTGCCCGGCACGAACACC-3'). რეაქციის საერთო მოცულობა 50 მკლ -ს შეადგენდა (Fegan and Prior 2006). რეაქციის შემადგენელი კომპონენტების კონცენტრაციები და მოცულობები წარმოდგენილია ცხრილი 11- ში.

ცხრილი 11

ცდაში გამოყენებული რეაქციის კომპონენტები

კომპონენტები	კონცენტრაციები	მოცულობა (μl)
Sterile distilled water		33.3
Buffer	5X	5
MgI2	1.5mM	3
DNTPs	200 nM	4
AmpliTaq Gold DNA polymerase3	1 U/μl	0.2
Primer-F	300 nM	1.25
Primer-R	300 nM	1.25
Template	60 μg/μl	2
Total volume		48

პოლიმერაზულ ჯაჭვურ რეაქციას ვატარებდით პროგრამირებად თერმოციკლერში - PLH/867. ამპლიფიცირებული პროდუქტების აღრიცხვას ვახდენდით 1,5 % აგაროზის გელზე ტრანსილუმინატორის საშუალებით. მიქსის

ნაწილს ვტოვებდით ეპენდორფის პჯრ ტუბებში, რომელიც გამოიყენება *Egl* –გენის სექვენირებისათვის.

ცხრილი 12

Egl გენის აღმოჩენის პროგრამათა ციკლი

საფეხური	ტემპერატურა	დრო
დენატურაცია	96°C	9 min
1 საფეხური	95°C	1 min
2 საფეხური	70°C	1 min
3 საფეხური	72° C	2 min
4 საფეხური	72° C	10 min
30 ციკლი		

პლასტიკის ტუბებში დარჩენილი მიქსის გასუფთავებას ვახდენდით QIAquick^R PCR Purification Kit-ის მეთოდით. სექვენირებული უბნების მონაცემთა გასაანალიზებლად გამოყენებული იყო ფილოგენეტიკური მიდგომა, რომელსაც უზრუნველყოფს “MEGA” პროგრამა. ფილოგენეტიკური ხეები აგებულია გენეტიკურად დაშორებული წევრებისგან UPGMA გამოთვლითი მეთოდის გამოყენებით. მონაცემები სტატისტიკურად დამუშავდა მაქსიმალური ალბათობის FastDNAML პროგრამით.

2.10.2. *R. solanacearum* - ის სრული გენომის სექვენირება

Ralstonia solanacearum - ის სრული გენომის სექვენირება განხორციელდა Illumina MiSeq-ის სექვენატორის გამოყენებით. Illumina სექვენატორის “Illumina Sequencing Workflow“ სამუშაო პლატფორმა, ითვალისწინებს მთელ რიგ პროცედურებს: 1.

ნიმუშების გამოყოფა და ხარისხის კონტროლი, 2. ფრაგმენტაცია, 3. დნმ-ის ფრაგმენტების ბოლოების ინდექსირება და გასუფთავება, 4. პჯრ ამპლიფიკაცია; 5. დნმ ბიბლიოთეკების ხარისხობრივი და რაოდენობრივი კონტროლი და სექვენირება. პირველ ეტაპზე ხდება, საკვლევი დნმ-ის ხარისხის კონტროლი. გენომური ბიბლიოთეკების რაოდენობრივი განსაზღვრისათვის გამოყენებული იყო Qubit 2.0 ფლუორომეტრი (Qbit 2.0 Fluorometer – Life Technologies). ცდაში გამოიყენება Qubit-ის 0,5მლ-იანი ტუბები (500, Invitrogen Cat. No. Q32856). პროტოკოლის თანახმად დნმ-ის კონცენტრაციის განსაზღვრას ესაჭიროება ორი Qubit-ის ტუბი - ერთი სტანდარტისათვის და თითო Qubit-ის ტუბი ნიმუშისათვის. სამუშაო ხსნარი მზადდება შემდეგი განზავებით 1:200, Quant-iT რეაგენტი /Quant-iT ბუფერში. ნუკლეოტიდური ფრაგმენტების შეკვეცისთვის გამოიყენებოდა Covaris M220 ულტრასონიკატორი (Covaris, Inc.). ეს არის „Covaris“ ხელსაწყო რომელიც, დაკავშირებულია კომპიუტრთან. იმის მიხედვით, თუ რა სიგრძის ნუკლეოტიდური ფრაგმენტების მიღება გვსურს ჩვენი საკვლევი დნმ-ის ნიმუშიდან, Sonolab-ის კომპიუტერულ პროგრამის საშუალებით ხდება განსაზღვრული მეთოდის არჩევა. შემდგომ ფრაგმენტაციის შედეგების გაანალიზება ხდება ბიოანალიზატორით (BioAnalyzer 2100-ით Agilent ტექნოლოგიები, Inc.). რომელიც გამოიყენება პჯრ -ით გამდიდრებული გენომური ფრაგმენტების ბიბლიოთეკების ზუსტი ზომებისა და ხარისხის გადასამოწმებლად, ამისათვის საჭიროა დნმ 1000-იანი ჩიპი. გენომური ბიბლიოთეკები მომზადდება, როგორც ინდექსირებული, მოკლეჩანართით დაწყვილებულბოლოებიანი ბიბლიოთეკები, რომელიც შემდგომ გამოიყენება კლასტერების შექმნისა და დნმ-ის სექვენირებისათვის. ანალიზისათვის გამოიყენება Illumina TruSeq-ის მიერ მოწოდებული რეაგენტები და დნმ ნიმუშის მომზადების ნაკრები. ცნობილია რომ, TruSeq-ის დნმ-ის ნიმუშების მომზადების Kit v2 Set A შეიცავს 12 ინდექსს, ხოლო TruSeq დნმ ნიმუშის მომზადების Kit v2 Set B შეიცავს განსხვავებულ 12 ინდექსს. შემდეგ Illumina TruSeq - ის დნმ ნიმუშს ემატება ადაპტერი უბანი და მთავრდება დნმ ფრაგმენტების ბიბლიოთეკების გენერირება. სექვენირდება მიმდინარეობს Illumina Miseq პლატფორმაზე (Illumina, Inc.) თითოეული გამიფრული ნიმუშის მითითებები წარმოდგენილია fastq ფაილის

სახით. ბაქტერიული გენომის სექვენირებული ნიმუში ექსპორტირდება და შემდგომი გაანალიზება ექვემდებარება CLC Bio კომპიუტერულ პროგრამას (CLC Bio, Aarhus, Denmark; de novo assembly).

2.11. ბაქტერიოფაგები

2.11.1. ბაქტერიული ვირუსების გამოყოფის, გამრავლების და კონცენტრირების, ბაქტერიოფაგების ბიოლოგიური თვისებების შესწავლის მეთოდები

გამდიდრების სტანდარტული მეთოდით გაფილტრულ წყლის სინჯს ვუმატებდით კონცენტრირებულ ბულიონს და ბაქტერიული კულტურის ნარევეს, პროპორციით 10:1:1 და ვათავსებდით თერმოსტატში 18-24სთ 29°C - ზე. 5000 ბრ/წთ ცენტრიფუგირების შემდეგ სუსპენზიას ვფილტრავდით 0,2 მკმ ზომის ფილტრში და ვაწვეთებდით ინდიკატორი ბაქტერიის გაზონზე. ფაგის ლიზისური ზონების გამოსავლენად ფინჯნებს ვამოწმებდით 18-24 საათში (Funke... 1998); Karumidze... 2012).

კულტურათა სუპერნატანტებიდან (ფისკას მეთოდი) ბულიონში გაზრდილ კულტურებს ვაძველებდით 48-72 საათის განმავლობაში. ვაცენტრიფუგირებდით 5000 ბრ/წთ სიჩქარეზე. სუპერნატანტებს ვაწვეთებდით ინდიკატორი ბაქტერიის გაზონზე. ლიზისურ ზონებს ვნახულობდით 18-24 საათის შემდეგ.

ფაგის ზუსტი ტიტრის დადგენას ტესტ-შტამზე ვახენდით ორშრიანი აგარის მეთოდით (Gratia, 1936; Gabrilovich, 1973; Adams , 1961)

ფაგების სუფთა ხაზების მისაღებად ვიყენებდით ორშრიანი აგარის მეთოდს, რისთვისაც თანმიმდევრული პასაჟებით ვახდენდით მორფოლოგიურად ერთგვაროვანი კოლონიებიდან 5-10 კოლონიის შერჩევას.

ფაგის ნეგატიური კოლონიის ფორმას ვადგენდით სტანდარტული შემადგენლობის ნიადაგზე (CPG ნიადაგი) ერთი და იგივე ტესტ-ბაქტერიების გამოყენებით ორშრიანი აგარის მეთოდის საშუალებით. ნეგატიური კოლონიების ანალიზს ვახდენდით მათი ფორმირების დამთავრების შემდეგ (18-24სთ).

ფაგების ლიზისური სპექტრის საორიენტაციო განსაზღვრას ვაწარმოებდით მყარ საკვებ არეზე spot testis საშუალებით (Tediashvili... 1979); (Clockie... 2009). საცდელი ფაგის სამუშაო ტიტრი შეადგენდა 1×10^8 ნაწ/მლ. ფაგის სუსპენზიის წვეთები დაგვექონდა 4სთ-იანი ბულიონიანი კულტურის გამშრალ ზოლზე და 28°C -ზე 4-12 სთ ინკუბაციის შემდეგ აღვრიცხავდით შედეგებს.

ფაგების ლიზისის სტაბილობის განსაზღვრას ვახდენდით თხიერ არეში აპელმანის მეთოდის გამოყენებით. 4,5 მლ CPG ბულიონის შემცველ სინჯარებში ვამზადებდით საკვლევი ბაქტერიოფაგის 0,2 მკმ-იან მემბრანულ ფილტრში გატარებული სუსპენზიის განზავებებს ისე, რომ ფაგური ნაწილაკების რაოდენობა პირველი სინჯარიდან ბოლო სინჯარისკენ თანმიმდევრობით შემცირებულიყო 10^8 ნაწ/მლ - 10^1 ნაწ/მლ. თითოეულ სინჯარაში შეგვექონდა ექსპონენციალურ ფაზაში მყოფი ბაქტერიული კულტურის სუსპენზია საბოლოო კონცენტრაციით საშუალოდ 1-2 10^8 უჯრ/მლ. და ვახდენდით ინკუბაციას 28°C -ზე 4-6-24-48 საათის განმავლობაში. საკვლევი ფაგის ლიზისის სტაბილობის მახასიათებლად აღვრიცხავდით ინკუბაციის დროს და იმ ბოლო განზავებას, რომელ სინჯარაშიც არ აღინიშნებოდა ბაქტერიული კულტურის ზრდა.

ფაგის ვირიონის მორფოლოგიას ვსწავლობდით ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით. პრეპარატებს ვამზადებდით ნეგატიური კონსტრასტირების მეთოდით ურანილაცეტატის 2%-იანი წყლიანი ხსნარის გამოყენებით. ფაგის ბაქტერიის სუსპენზია ან კონცენტრატი დაგვექონდა საკონტრასტო ნიმუშებთან ერთად კოლოდიუმის აპკებზე – ბადეებზე. სტრუქტურულ კვლევას ვაწარმოებდით IEM-1200CX (Jeol, იაპონია) და ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით.

ბაქტერიოფაგების კონცენტრატს მყარ არეზე ვღებულობდით სტანდარტული მეთოდით, რომელიც გულისხმობს თხელი აგარის ფენაში მაღალი სიმკვრივის ბაქტერიული სუსპენზიის ფაგოლიზის და მინიმალური მოცულობის თხევად არეში

ფაგის შემდგომ ექსტრაგირებას. ფაგურ კონცენტრანტს ვამზადებდით საშუალოდ 25 ფინჯანზე: 0,7% აგარიან საკვებ ნიადაგში (CPG) შეგვქონდა ბაქტერიები $1-5 \times 10^8$ უჯ/მლ და ბაქტერიოფაგები 1×10^5 ნაწ/მლ საბოლოო კონცენტრაციით. ინკუბაციას ვახდენდით 28°C -ზე 18-24 სთ, ვხსნიდით აგარის ზედა ფენას შპადელით, ვაცენტრიფუგირებდით 5000 ბრ/წთ 30 წთ და ვამოწმებდით ტიტრს გრაციას მეთოდით. მიღებული ფაგოლიზატის ტიტრი სახვასხვა ფაგებისათვის განსახვავდებოდა - შეადგენდა $1-5 \times 10^{10}$ - $1-5 \times 10^{11}$ ნაწ/მლ.

კონცენტრირებისა და ბაქტერიოფაგის შემდგომი გაწმენდის მიზნით ვახდენდით დიფერენციალურ ცენტრიფუგირებას 20000 ბრ/წთ (35000g) $+4^{\circ}\text{C}$ -ზე, 1,5-3 სთ-ის განმავლობაში, (ცენტრიფუგა Bekman Allegra 64R). პრეპარატის საწყისი მოცულობიდან გამომდინარე ნალექს ვხსნიდით საშუალოდ 20-ჯერ ნაკლები მოცულობის ბუფერულ ხსნარში 1 SSC (pH 7,0) ან PBS (pH 7,2), ვდგამდით მაგნიტურ სარეველაზე $+4^{\circ}\text{C}$ -ზე 3-4 სთ-ის განმავლობაში და შემდეგ ვაცენტრიფუგირებდით $3500-4000\text{g}$ -ზე 20 წუთს, ბაქტერიული ნარჩენების მოცილების მიზნით. ფაგური პრეპარატის ტიტრს ვსაზღვრავდით ორშრიანი მეთოდით.

2.14. მცენარეთა ექსტრაქტების ანტიმიკრობული მგრძნობელობის განსაზღვრა

In vitro პირობებში მცენარეთა ექსტრაქტების ანტიმიკრობული მგრძნობელობის განსაზღვრისათვის გამოყენებულ იქნა დისკ-დიფუზიის მეთოდი (Aboul-Enein... 2011). მგრძნობელობის მაჩვენებლები გამოითვალა „ანტიბიოტიკების მგრძნობელობის ტესტის ევროპული კომიტეტის“ (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) დებულების შესაბამისად, რომლის მიხედვითაც, შტამი ითვლება რეზისტენტულად თუ ინჰიბიტორული ზონის დიამეტრი არის $<17\text{მმ}$ და მგრძნობიარედ თუ დიამეტრი არის $\geq 22\text{მმ}$. <http://www.eucast.org/>. ტესტ - კულტურების მოსამზადებლად ვიყენებდით ორშრიანი აგარის მეთოდს (Gratia, 1936; Gabrilovich, 1973; Adams, 1961). კერძოდ

ბულიონიანი კულტურის 0,2მკლ ვამატებთ 4.5 მლ 0.7 % ნახევრად თხიერ აგარს და ვასხამთ წინასწარ მომზადებულ კაზეინ - პეპტონინ აგარის შემცველ ფინჯანზე. გამყარების შემდეგ ვაწვეთებთ საკვლევი ექსტრაქტის 10 μ ლ -ს (Dudonne... 2011). ცდას ვაწარმოებდით, თითო მცენარისათვის სამჯერადი გამეორებით და ერთი კონტროლის (ვიყენებდით სტერილურ წყალს ექსტრაქტის მაგივრად) გათვალისწინებით. გამოსაკვლევ პეტრის ფინჯნებს ვათავსებდით 28°C - ის პირობებში, დაკვირვებას ვაწარმოებდით 24-48 სთ-ის განმავლობაში.

ექსტრაქტების მიღება ხდებოდა ფოთლის კარგად დასრესილი მასალიდან გამოწურვით. ახლად დაკრეფილი გამოსაკვლევ მცენარეთა ფოთლების 100გრ-ს ვასუფთავებდით დისტილირებული და სტერილური წყლით, კარგად ვაქუცმაცებდით სტერილური მაკრატილით და ვსრესდით მექანიკურ როდინში, 100მლ სტერილური წყლის დამატებით. შემდგომ ვახდენდით ცენტრიფუგირებას (5000 ბრუნი/წთ) 10 წთ-ის განმავლობაში და სუპერნატანტს ვიყენებდით ჩვენს კვლევაში.

2.13. ექსპერიმენტული მონაცემების სტატისტიკურად დამუშავება

ექსპერიმენტულ მონაცემებს სტატისტიკურად ვამუშავებდით კომპიუტერული პროგრამა (Graphpad prisma 6) -ის დახმარებით. ორფაქტორიანო ANOVA - მეთოდის მრავალჯერადი ტესტის გამოყენებით ($P = 0.05$), ხოლო სექვენირებისას მიღებულ მონაცემების სტატისტიკურ ანალიზისათვის ვიყენებდით ბიოინფორმატიკული პროგრამა CLC Bioworkbench v8.1.-ის და კომპიუტერული პროგრამა MEGA6 (Tamura, 2013). პროცენტული მაჩვენებლების სანდოობის კოეფიციენტი გამოთვლილი იქნა ურბახის მეთოდით $m \pm \sqrt{(P(100-P))/n}$ სადაც P- პროცენტი, n- საანალიზოდ აღებული ნიმუშების რაოდენობა (Ypmax, 1975).

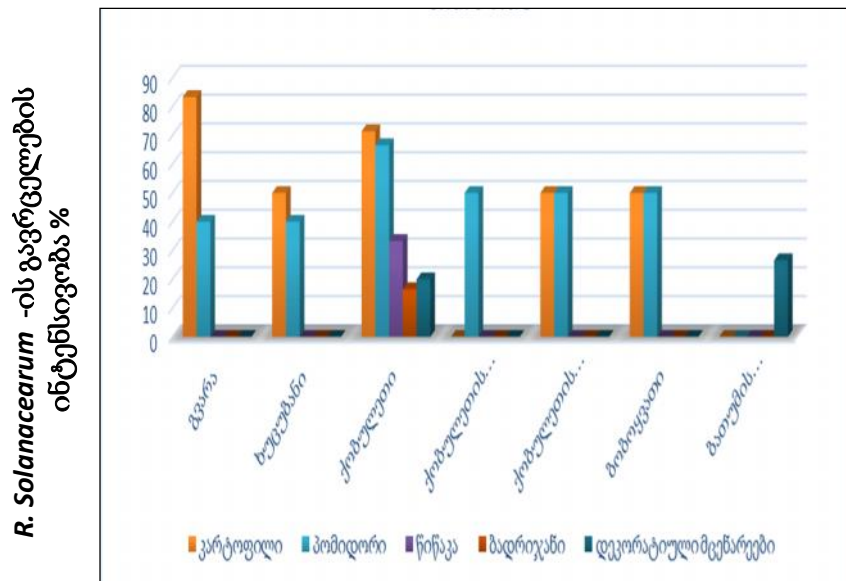
თავი 3. შედეგები

3.1. *Ralstonia solanacearum* - ით გამოწვეული მცენარეთა ბაქტერიული დაავადებების გავრცელება საქართველოში

საქართველოში *Ralstonia solanacearum* - ის გავრცელების დასადგენად და მასპინძელი მცენარეების გამოვლენის მიზნით 2011-2015 წლებში მონიტორინგი განვახორციელეთ, სხვადასხვა გეოგრაფიულ ზონაში, მარშრუტული გამოკვლევების გზით. შევისწავლეთ კარტოფილის, პომიდორის და წიწაკის საკარმიდამო და ფერმერულ მეურნეობებში გაშენებული ნათესები (როგორც ღია, ასევე დახურული გრუნტის პირობებში), ინფიცირებულ მცენარეთა გამოსავლენად. ასევე, კვლევა ჩავატარეთ ბათუმის ბოტანიკური ბაღის ტერიტორიაზე, რადგან ცნობილია, რომ *R. solanacearum* აავადებს მრავალ დეკორატიულ მცენარეს (Belén...2010).

საქართველოს 12 სხვადასხვა რეგიონში მურა სიდამპლის გავრცელების დადგენის მიზნით განხორციელებულმა კვლევებმა აჩვენა, რომ ბაქტერიული სიდამპლე არის გავრცელებული სხვადასხვა აგრო ეკოლოგიურ ზონაში განსხვავებული ინტენსივობით, როგორცაა (ახალციხე, ზღვის დონიდან - 1200მ-ზე ხულო - 923მ-ზე; ქობულეთი - 10მ-ზე).

კოლხეთის დაბლობზე გამოვიკვლიეთ ქობულეთის, გვარის, ხუცუბანის, ციხისძირის, ბობოყვათის საკარმიდამო ნაკვეთები, სადაც დადგინდა, რომ მცენარეთა (პომიდორი, კარტოფილი, წიწაკა, ბადრიჯანი) ბაქტერიოზები 48,54% -ით იყო გავრცელებული. განსაკუთრებით მაღალი იყო კარტოფილის მურა სიდამპლის შემთხვევები სოფელ გვარაში და ქობულეთში, (შესაბამისად - 83,33%; და 71,42%), (იხილეთ დანართი 3). ბაქტერიული სიდამპლით დაავადებული იყო ძალყურძენასებრთა ოჯახის სხვა წარმომადგენლებიც: პომიდორი, წიწაკა, ბადრიჯანი და დეკორატიული მცენარეები- *Steritzia spp.* და *Pelargonium zonale*. პომიდორის ბაქტერიული ჭკნობის შემთხვევები დაფიქსირდა, როგორც ღია გრუნტში გაშენებულ საკარმიდამო ნაკვეთებზე, ასევე სასათბურე მეურნეობებში, სადაც დაავადება გავრცელებული იყო მცენარეთა 50% ზე. წიწაკისა და ბადრიჯნის დაავადების შემთხვევები ქობულეთის საკარმიდამო ნაკვეთებზე შესაბამისად, 33,3% და 16,6% - ით გამოვლინდა (დიაგრამა1).



დიაგრამა 1. ქობულეთის რაიონში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა

შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ დაავადების მასობრივ გავრცელებას ხელი შეუწყო სარწყავი წყლების ინფიცირებამ. გარდა ამისა, ადგილობრივი კლიმატი - სუბტროპიკული, თბილი და ტენიანი ჰავა, წარმოადგენს ერთ-ერთ ხელშემწყობ ფაქტორს პათოგენის სასიცოცხლო ციკლისთვის (Ji... 2005), რაც აისახება დაავადების პროგრესულად განვითარებაში.

ბათუმის ბოტანიკური ბაღში განხორციელებულმა მონიტორინგმა გამოავლინა, რომ *R. solanacearum* -ით გამოწვეული ბაქტერიული სიდამპლით დაავადებული იყო დეკორატიული მცენარე *strelizia spp.*, რომლის პოპულაციაში დაავადების გავრცელების ინტენსივობა 26,6 % -ს შეადგენდა. ბაქტერია *R. solanacearum* -ით გამოწვეული *strelizia spp.* - ს ბაქტერიოზები, არა ერთ მეცნიერთა შრომებშია ასახული (Elphinstone, 2005).

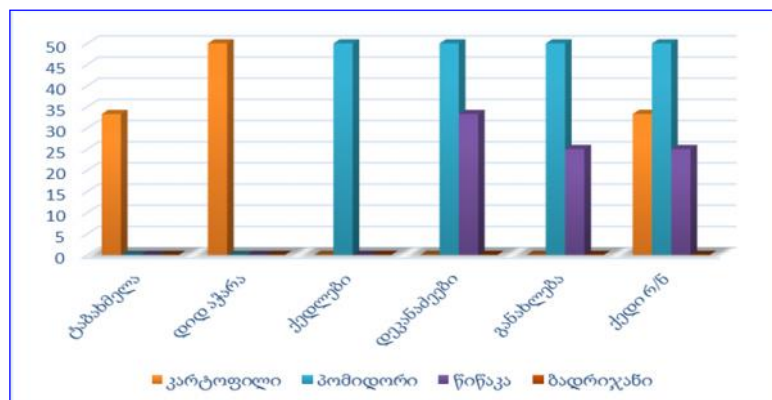
ზემო აჭარის რეგიონში ჩატარებული ფიტოსანიტარული მონიტორინგის შედეგად გამოვლინდა *R. solanacearum* -ით გამოწვეული ბაქტერიული დაავადების შემთხვევები როგორც კარტოფილზე, ასევე პომიდორზე და წიწკაზე (დანართი 4). მონიტორინგის გეგმის მიხედვით შესწავლილი იქნა, აგრეთვე საცავებში შენახული კარტოფილიც (სურათი 4).



სურათი 4. საცავებში შენახული კარტოფილის მონიტორინგი

განსაკუთრებით მაღალი ინტენსივობით იყო გავრცელებული კარტოფილის მურა სიდამპლე ტაბახმელაში - (53,3%) და დიდ აჭარაში - (50%). პომიდორისა და წიწაკის ბაქტერიოზები გამოვავლინეთ როგორც ხულოს, ასევე ქედის რ/ნ-ში, რაც საშუალოდ შეადგენდა (შესაბამისად 50% -ს და 25%-ს) (დიაგრამა 2).

R. solanacearum-ის გავრცელების ინტენსივობა %



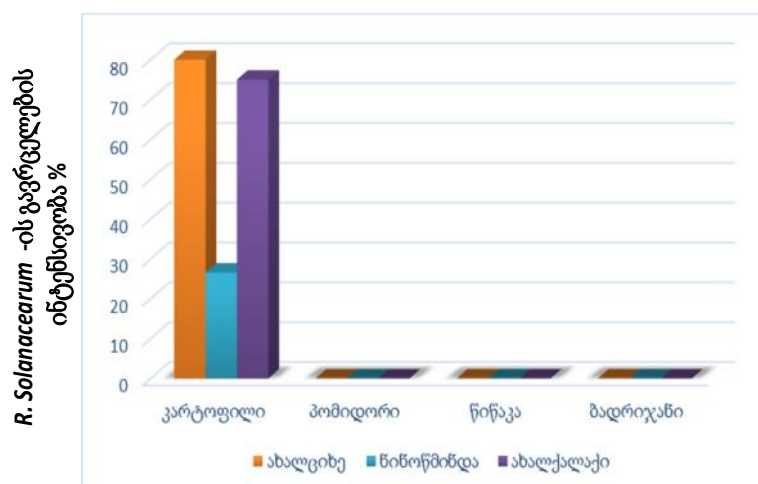
დიაგრამა 2. ზემო აჭარის რაიონში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა.

სამხრეთ საქართველოში, სამცხე - ჯავახეთის ზონაში გამოვიკვლიეთ კარტოფილის ნათესი ფართობები და საცავეები ახალციხის, ახალქალაქის და ნინოწმინდის რაიონებში. (იხილეთ დანართი 5); (სურათი 5).



სურათი 5. კარტოფილის ნათესი ფართობების მონიტორინგი ახალქალაქის რაიონში

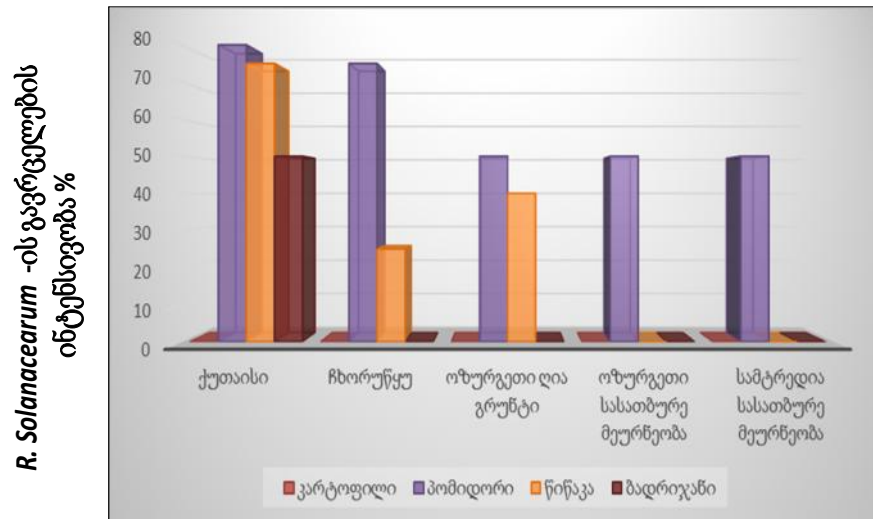
დავადგინეთ, რომ მურა სიდამპლე ყველაზე მაღალი ინტენსივობით გავრცელებული იყო ახალციხისა და ახალქალაქის რაიონში და შეადგენდა (80% -სა და 75%), ხოლო ნინოწმინდაში შედარებით დაბალი გავრცელება აღინიშნებოდა 26,6% (დიაგრამა 3).



დიაგრამა 3. სამცხე ჯავახეთში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა

კვლევებმა გვიჩვენა რომ, ფიტოპათოგენი *R. solanacearum*, ასევე კარგად შეგუებული აღმოჩნდა საქართველოს მთიანი რეგიონის პირობებთან. ლიტერატურული წყაროებიდან ცნობილია, (French... 1993; Lopes... 1993; Maciel... 2001; Silveira... 2002), რომ რასა 3 ბიოვარი 2, ე.წ. „კარტოფილის რასა“ ფართოდ არის გავრცელებული მსოფლიოში და ასევე კარგად ადაპტირდება ზომიერ და გრილ კლიმატურ პირობებთან (Milling et al., 2009), რაც კარგად ეთანხმება ჩვენს დაკვირვებას. რადგან, სამცხე-ჯავახეთის ზონაში, რომლის უმეტეს ნაწილში მთიანეთის სტეპების ჰავაა, ზამთარი – ცივი, მცირეთოვლიანი, ზაფხული - ხანგრძლივი და თბილი <http://samtskhe-javakheti.go.ge/>, კერძოდ, ახალციხის ქვაბულის ძირზე იანვრის საშ. ტემპ-რა 3,8 c, ხოლო აგვისტოში 20,5 c. უფრო მაღალ ზონაში, მესხეთის ქედზე ზღვის ნოტიოდან, ზომიერად ნოტიო კონტინენტურზე გარდამავალი ჰავა გვხვდება მაღალმთიან აჭარაშიც კლიმატი – კონტინენტურია, საშუალო წლიური ტემპერატურა – 10,1C°, ნალექების საშუალო წლიური რაოდენობა – 1000–1200 მმ <http://www.khulo.ge/> .

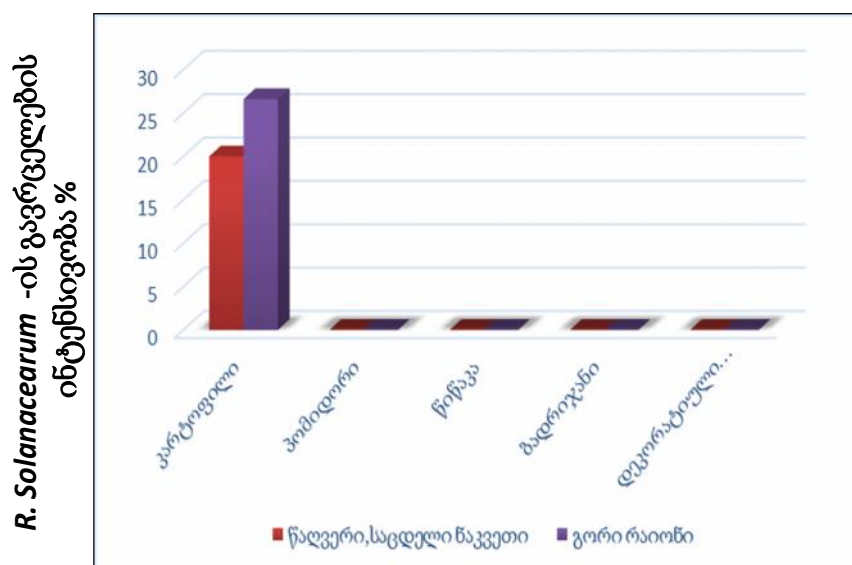
ჩატარებული მონიტორინგის ფარგლებში, დასავლეთ საქართველოში შევისწავლეთ, კომერციული ნათესები როგორც ღია ნაკვეთებზე, ასევე სასათბურე მეურნეობებში. კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ *R. solanacearum* - ით ინფიცირებული იყო სხვადასხვა მასპინძელი მცენარე: კარტოფილი, პომიდორი, წიწაკა, ბადრიჯანი (დანართი 6). მცენარეთა ბაქტერიოზების შემთხვევები ყველაზე მაღალი ინტენსივობით გამოვლინდა ქუთაისში - (75%) და ჩხოროწყუს რ/ნ-ში - (58,3%). ქუთაისში პომიდორის მოსავლის 80% განადგურებული იყო ბაქტერიული ჭკნობით, ხოლო ოზურგეთისა და სამტრედიის კერძო სასათბურე მეურნეობებში მოსავლის დანაკარგები შეადგენდა 50% (დიაგრამა 4).



დიაგრამა 4. დასავლეთ საქართველოში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა

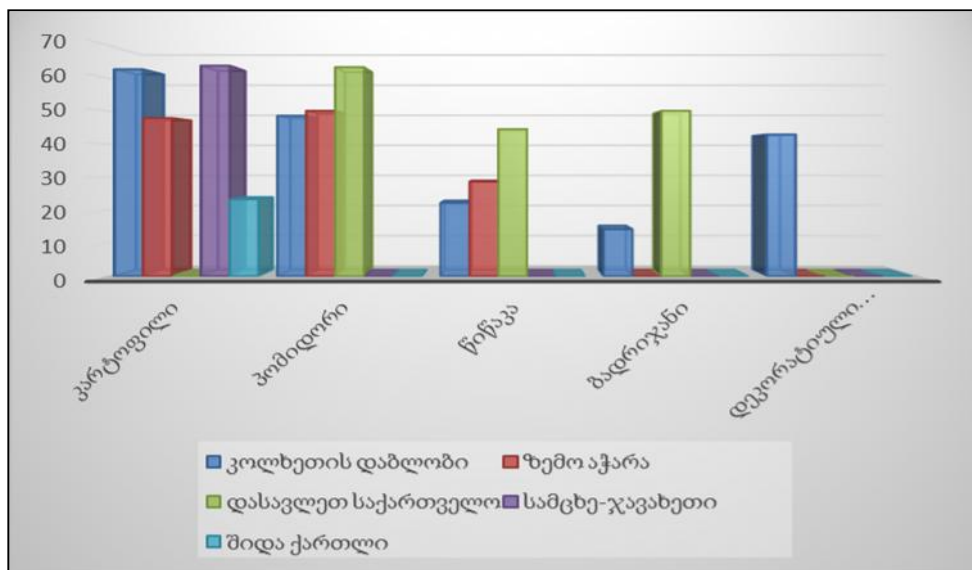
აღნიშნულ რაიონში, ბაქტერიული სიდამპლის განვითარებას ხელი შეუწყო არა მარტო კლიმატურმა პირობებმა, არამედ მიმდებარე ჯიშების არსებობამ და მასპინძელ მცენარეთა მრავალფეროვნებამ (Kelman, 1953; Bradbury, 1986; Persley, 1986; Hayward, 1994a).

R. solanacearum - ით გამოწვეული მცენარეთა დაავადების შემთხვევების ყველაზე დაბალი მაჩვენებელი შესწავლილ რეგიონებს შორის გამოვლინდა შიდა ქართლში, სადაც კარტოფილის მურა სიდამპლის გავრცელების ინტენსივობამ შეადგინა 23,3% (იხილეთ დანართი 7), (დიაგრამა 5).



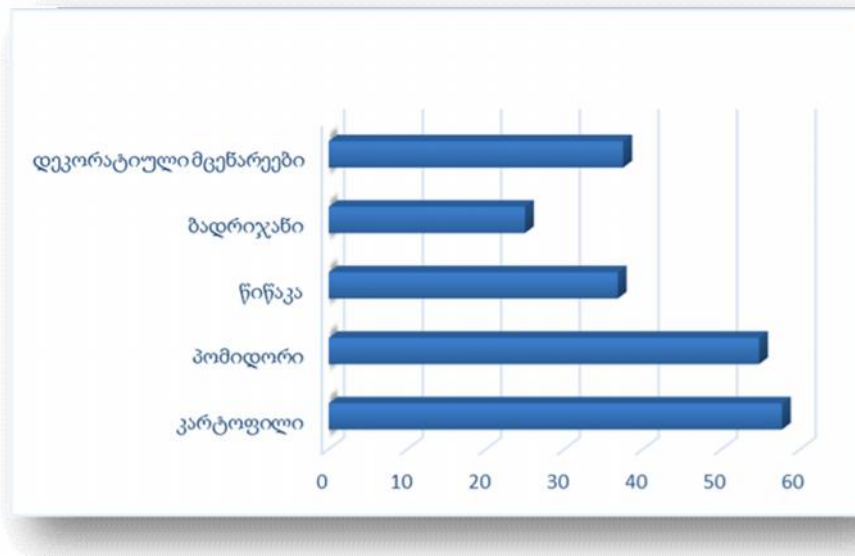
დიაგრამა 5. შიდა ქართლში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა

ამრიგად, ბოლო წლებში (2011-2015) ჩატარებული კვლევებიდან გამომდინარე შეგვიძლია ვთქვათ, რომ ისეთი აგრესიული ფიტოპათოგენი, როგორცაა ბაქტერია *R. solanacearum*, ჩვენს ქვეყანაში საკმაოდ კარგად არის გავრცელებული, მოიცავს რა შემდეგ გეოგრაფიულ ზონებს: 1. სამცხე-ჯავახეთი, სადაც კარტოფილის მურა სიდამპლე 63,6% შეადგენს. 2. კოლხეთის დაბლობი, სადაც დაავადების გავრცელების ინტენსივობა იყო - 48,54% და აღინიშნებოდა სხვადასხვა მასპინძელ მცენარეზე (კარტოფილი, პომიდორი, წიწაკა), მათ შორის დაავადება ყველაზე მაღალი პროცენტით დაფიქსირდა კარტოფილზე - (62, 5%) და პომიდორზე - (48,48%). 3. ზემო აჭარა, სადაც ბაქტერიული ლპობის შემთხვევების რაოდენობა შეადგენდა - 43,13%. მათგან, უმეტესი წილი მოდიოდა კარტოფილის მურა სიდამპლეზე. ზოგადად, დასავლეთ საქართველოში დაავადების გავრცელების ინტენსივობა შეადგენდა - 63,15%, რომელიც მოიცავდა როგორც ღია ასევე, სასათბურე მეურნეობებს (დიაგრამა 6).



დიაგრამა 6. *R. solanacearum* -ით დაავადებული მასპინძელი მცენარეების გავრცელების ინტენსივობა საქართველოს სხვადასხვა გეოგრაფიულ ზონაში.

კვლევის პროცესში გამოვალინეთ საქართველოს სხვადასხვა გეოგრაფიულ ზონაში გავრცელებული *R. solanacearum* - ის მასპინძელი მცენარეები, რომლებზეც ბაქტერიოზები სხვადასხვა ინტენსივობით გვხვდებოდა. მათ შორის ყველაზე მეტად აღინიშნებოდა კარტოფილის მურა სიდამპლე - 57,7%, შემდეგ - პომიდორის ბაქტერიული ჭკნობა (54,8%) (დიაგრამა 7).



დიაგრამა 7. *R. solanacearum* - ით დაავადებულ სხვადასხვა მასპინძელ მცენარეთა რიცხვი.

ჩვენს მიერ განხორციელებული მონიტორინგის შედეგად გამოვლინდა, რომ *R. solanacearum* -ის გავრცელების არეალი მოცავს საქართველოს დასავლეთ, და აღმოსავლეთ ნაწილს, როგორც ვაკე, ისე მთიან რეგიონებს (რუკა 2). მასპინძელ მცენარეებზე ბაქტერიოზების გავრცელების განსხვავებული ინტენსივობა აღინიშნა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში. აგრეთვე დადგენილ იქნა, რომ ქართული შტამები ხასიათდებოდა პატრონ მცენარეთა მრავალფეროვნებით, რაც თავის მხრივ, პათოგენის შიდასახებრივ მრავალფეროვნებაზე მეტყველებს (<http://www.cabi.org/>).



რუკა 2. საქართველოში *R. solanacearum*-ის გავრცელების არეალის მაჩვენებელი რუკა

3.2. დაავადებულ მცენარეთა შეგროვილი ნიმუშების შესწავლის შედეგები

საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში ჩატარებული მონიტორინგის განმავლობაში, ჩვენს მიერ შეგროვილ მცენარეთა ნიმუშებს ახასიათებდათ დაავადების ისეთი ნიშნები, როგორცაა ფოთლების სიყვითლე და ზედა ყლორტების ჭკნობა, ხოლო დაავადების პროგრესულად განვითარებისას, კი მცენარეები ზრდა-განვითარების ადრეულ სტადიაზე მთლიანად ხმებოდა სველი სიდამპლის თანხლებით (სურათი 6).



სურათი 6. ბაქტერიული სიდამპლით დაავადებული პომიდორისა (1) და კარტოფილის (2,3) მცენარეები

დაავადებული კარტოფილის ტუბერების დათვალიერებისას, აღვრიცხავდით, როგორც ლატენტურად დაავადებულ ფორმებს, ასევე, მკვეთრად გამოხატულ სიმპტომების მქონე მცენარეებს, რომელთა გორგლების გადანაჭერზე კარგად ჩანდა წრიული, ყავისფერი რგოლები, რძისფერი გამონადენით. ზოგ შემთხვევაში, ტუბერებზე სტალონებთან ახლოს, აღინიშნებოდა თვალის ფორმის, შავი ლაქები, საიდანაც გამოედინებოდა ბაქტერიული, ლორწოვანი მასა (სურათი 7).



სურათი 7. მურა სიდამპლის დაავადების სიმპტომები კარტოფილის ტუბერებზე

ბაქტერიული სიდამპლით დაავადებული პომიდორის მცენარეები გამოვლენილი იქნა, როგორც ღია ასევე, დახურული გრუნტის პირობებში. როგორც, სურათიდან ჩანს, დაავადებული პომიდორის ღეროს გამტარი ქსოვილი იღებს მუქ შეფერილობას, სადაც გროვდება ბაქტერიული მასა. ასევე მცენარის წყლით მომარაგების პროცესის დარღვევა იწვევს ტურგორის დაკარგვას, ჩვენს მიერ შეგროვილ ნიმუშებს, სადაც დაავადება პროგრესულად მიმდინარეობდა უვითარდებოდან მიწისზედა ფესვები და ახასიათებდათ ჭურჭლოვანი სისტემის გახევება, რასაც თან ახლდა ფოთლების გაყვითლება, ცვენა და მცენარის ჭკნობა (სურათი 8).



სურათი 8. ბაქტერიული ჭკნობის დაავადების სიმპტომები პომიდორის მცენარეზე (ა. სათბურის პირობებში და ბ. დაავადებული პომიდორის ღეროს განივი

ამრიგად, საქართველოში *R. solanacearum* - ით ინფიცირებული მასპინძელ მცენარეებში გამოვლენილია იგივე სიმპტომები, რაც აღწერილია, მთელი რიგ სამეცნიერო შრომებში (McCarter, 1991; Elphinstone... 1998 ; Swanson... 2005, Champoiseau... 2009; Milling... 2009; Champoiseau...2010; EPPO, 2015).

3.3. პათოგენის გამოყოფა და იდენტიფიკაცია

მინდვრისა და საცავების პირობებში სიმპტომური ნიმუშების გამოკვლევისას ვიყენებდით იმუნო დიაგნოსტიკურ ტესტებს (იხილეთ 2.5.1. თავში), რამაც საშუალება მოგვცა გადაგვეჩია პოტენციურად ინფიცირებული მცენარეთა ნიმუშები (სურათი 9).

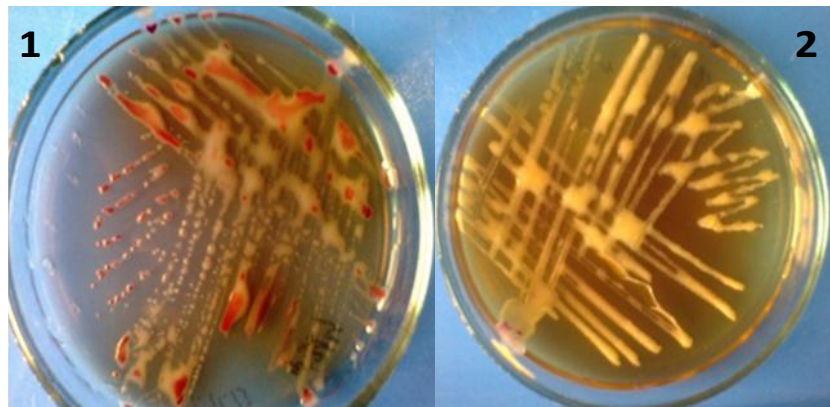


სურათი 9. დაავადებულ კარტოფილზე იმუნოდიაგნოსტიკური ცდის შედეგი.

შეგროვილი ნიმუშები შემდეგომ შესწავლილ იქნა ლაბორატორიულ პირობებში, ზემოთ აღწერილი მიკრობიოლოგიური და მოლეკულური ბიოლოგიის თანამედროვე მოლეკულური მეთოდების გამოყენებით (იხილეთ. 2.5.2.; 2.9.; 2.9.1.;).

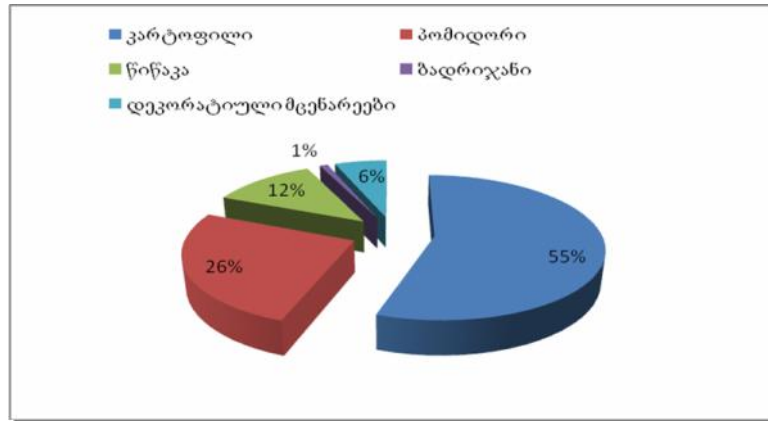
3.3.1. *Ralstonia solanacearum* - ის კულტივირება და იდენტიფიცირება სტანდარტული მიკრობიოლოგიური მეთოდით

ჩვენს მიერ შეგროვილი დაავადებულ მცენარეების (რომლებსაც ქონდათ დამახასიათებელი სიმპტომები) ნაწილებიდან, ვახდენდით ბაქტერიული პათოგენის კულტივირებას, რისთვისაც ვიყენებდით სელექციურ საკვებ ნიადაგებს: კელმანის ტრიფენოლტეტრაზოლიუმთან - TZC და მოდიფიცირებული SMSA არეებს (სურათი 10), (იხილეთ თავი 2.5.2.). შეგროვილი ნიმუშებიდან გამოყოფილი *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატები, წარმოქმნიდნენ ტიპურ კოლონიებს, რომლებიც შეესაბამებოდა სხვა მეცნიერთა მიერ მოწოდებულ აღწერილბას (Cook and Sequeria,1991; French... 1995; Caruso... 2003; Ozakman and Schaad, 2003; Marco-Noales... 2008).



სურათი 10. *R. solanacearum* – ის კოლონიები მოდიფიცირებულ 1. SMSA და 2. CPG საკვებ არეზე.

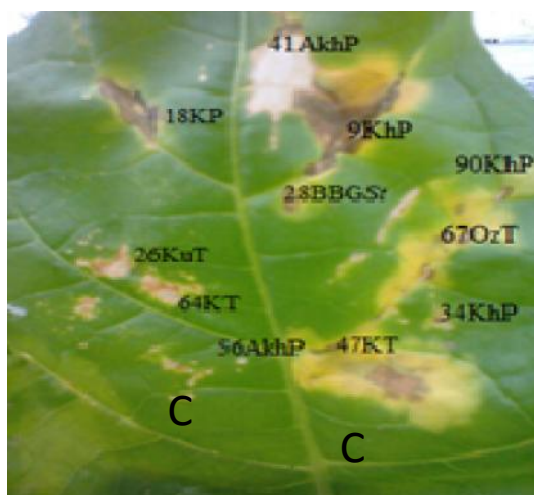
სულ, 2011-2015 წლებში განხორციელებული კვლევების შედეგად შეგროვილი იქნა *R. solanacearum* -ის 101 იზოლატი, რომლებიც იზოლირებული იყო სხვადასხვა მასპინძელი მცენარიდან (იხილეთ დანართი1). მათ შორის ინფიცირებული კარტოფილის ნიმუშებიდან გამოყოფილი იყო *R. solanacearum* 56 იზოლატი (მთლიანი რაოდენობის 55%). პომიდორიდან - 26 იზოლატი (25,7%), წიწაკიდან მიღებული იზოლატების პროცენტული რაოდენობა შეადგენდა - (11,8%), ბადრიჯნიდან - (0,9%) და დეკორატიული მცენარეებიდან - (5,9%), (იხილეთ დიაგრამა 8).



დიაგრამა 8. სხვადასხვა მასპინძელი მცენარიდან იზოლირებული შტამების პროცენტული თანაფარდობა.

3.3.2. ჰიპერმგრძობელობითი რეაქცია

შეგროვილი ნიმუშების გამოკვლევის მიზნით, ჩავატარეთ ჰიპერმგრძობელობითი რეაქცია თამბაქოს ფოთოლზე, ზემოთ აღწერილი მეთოდის მიხედვით (იხ 2.4. თავი). ჩვენს მიერ მოპოვებული მასალიდან *R. solanacearum* -ის 101 იზოლატი ავლენდა მაღალ ჰიპერმგრძობელობით რეაქციას, რომლებზეც გავაგრძელებთ შემდგომი კვლევები (სურათი 11).

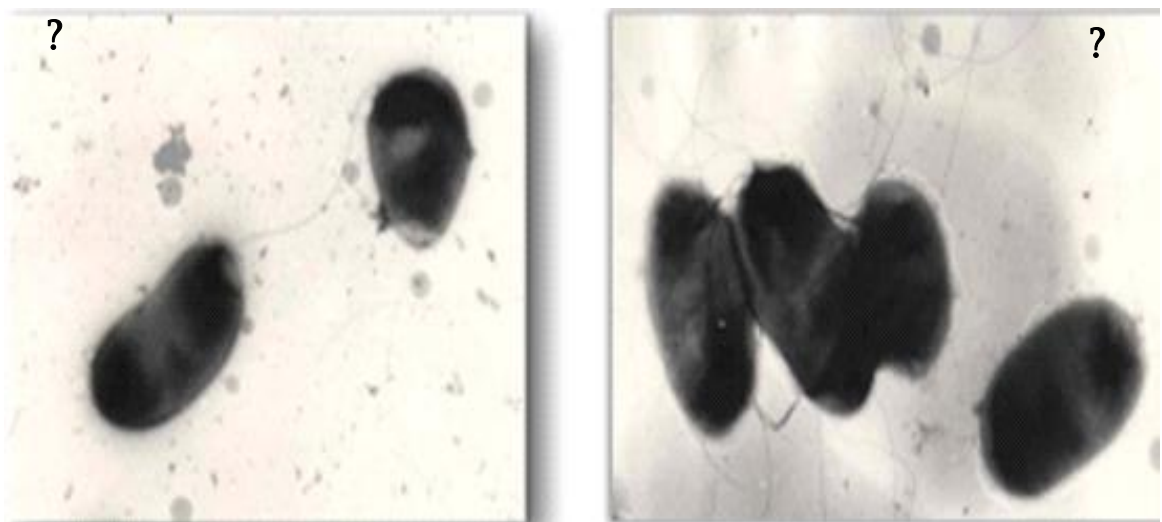


სურათი 11. *R. solanacearum* -ის იზოლატების ჰიპერმგრძობელობითი რეაქციის შედეგი თამბაქოს ფოთოლზე

3.3.3. *Ralstonia solanacearum*–ის ქართული შტამების იდენტიფიცირება ელექტრონული მიკროსკოპის საშუალებით

Ralstonia solanacearum–ის ქართული შტამების უჯრედების მორფოლოგიისა და ზომების შესასწავლად განვახორციელეთ ბაქტერიული კულტურებიდან მომზადებული პრეპარატების ელექტრონული მიკროსკოპირება, გამჭოლი ელექტრონული მიკროსკოპი JEM 100SSX (Jeol)-ის გამოყენებით, ელიავას გ. მიკრობიოლოგიის, ვირუსოლოგიისა ბაქტერიოფაგიის ინსტიტუტში.

შედეგებმა გვიჩვენა, *R. solanacearum*–ის ქართული იზოლატებში მორფოლოგიური ვარიაბელობა. შეინიშნებოდა დიდი და პატარა ზომის ჩხირისებური, მომრგვალებულ ბოლოებიანი ფორმები, რომელთა ზომების მაჩვენებლები იყო: სიგრძე - 1,8-1,24 მკმ, სიგანე -0,8 -1მკმ. 2-6მკმ -ის სიგრძის პოლარული შოლტი (ერთი ან ორი) (Anonymous, 1998; EU, 1998; Anonymous, 2006), (სურათი 12).



სურათი 12. *R. solanacearum* - ის იზოლატების KoPe19 (ა), AcP5 (ბ) ელექტრონული მიკროსკოპირების სურათი (მიკროსკოპი JEM 100SX (Jeol))

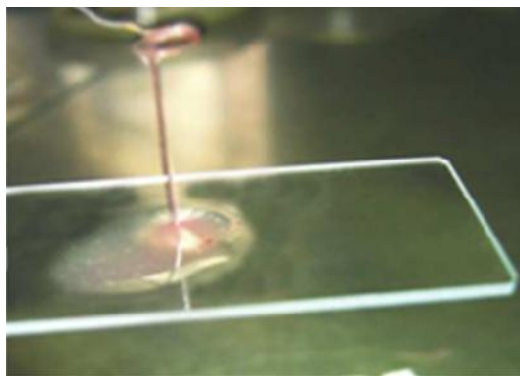
ამრიგად, ელექტრონული მიკროსკოპირებისას ნათლად გამოიკვეთა ქართული პოპულაციის მორფოტიპი, რომ თითოეული არის

მომრგვალებული ბოლოებიანი ერთი ან ორი პოლარული შოლტის მქონე დიდი და პატარა ზომის უჯრედები.

3.3.4. *R. solanacearum*-ის შტამების ფენოტიპური იდენტიფიკაცია

R. solanacearum-ის შტამების ფენოტიპური იდენტიფიკაციისათვის შვეისწავლეთ მათი მორფოლოგიურ - ბიოქიმიური და ფიზიოლოგიური მახასიათებლები.

KOH – ის ტესტი: ჩატარებულმა ცდამ გამოავლინა, რომ საკვლევი შტამები 100%-ით ამჟღავნებდნენ წელვადობას, რაც გრამ - უარყოფითი ბაქტერიების თვისებას წარმოადგენს, ჩვენი მიღებული შედეგი თანხვედრაში იყო სუსლოუს მიერ მიღებული შედეგთან (Suslow... 1982), (სურათ 13).



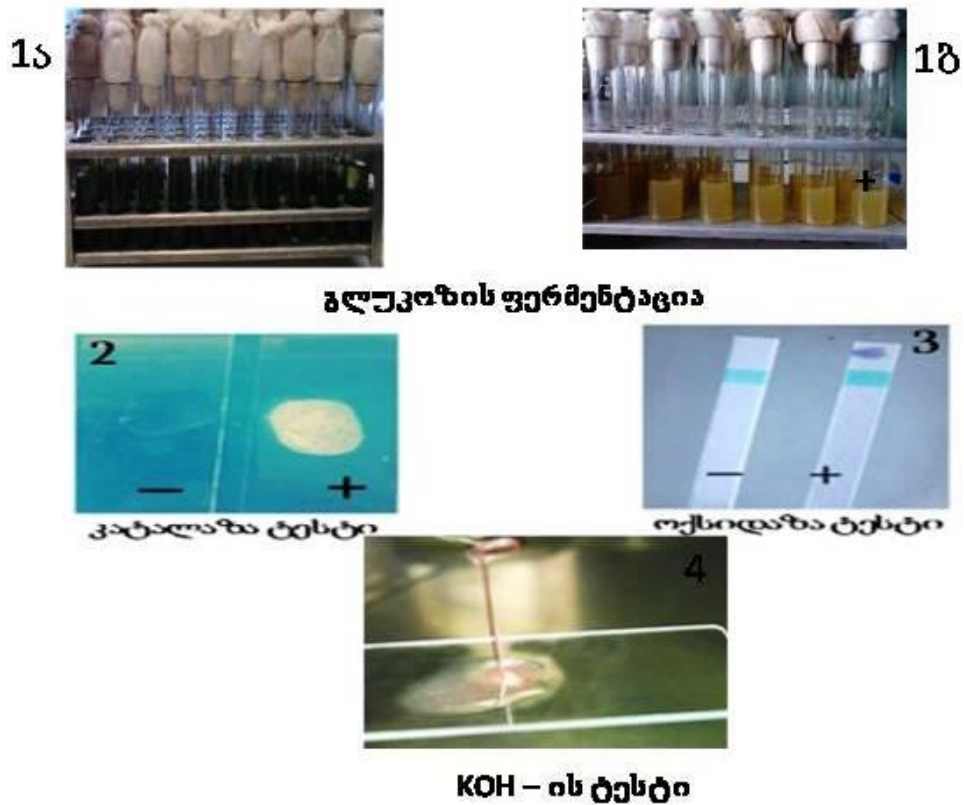
სურათი 13. KOH – ის ტესტი

კატალაზას ტესტი: ვატარებდით ახალგაზრდა კულტურებზე (18-24სთ). 3%-იან წყალბადის ზეჟანგის (H_2O_2) მოქმედებისას ბუშტების წარმოქმნის პროცესი რეაქციის დადებით პასუხად რეგისტრირდება (Schaad, 1980). ქართული იზოლატების შემთხვევაშიც იგივე აღინიშნებოდა (სურათი 14).

ოქსიდაზა ტესტი: ამ ტესტს ვიყენებდით *R. solanacearum*-ის შტამების საიდენტიფიკაციოდ ფსეუდომონადების ოჯახის სხვა წარმომადგენლებისგან. ჩვენს

მიერ გამოყოფილი შტამები წარმოქმნიდნენ მუქ შეფერილობას, რაც დადებით რეაქციად ითვლება (სურათი 14).

D-გლუკოზის ფერმენტაცია/ოქსიდაციის მექანიზმის დასადგენად ყოველი, სავარუდო *R. solanacearum*-ის იზოლატი, ჩხვლეტით ითესებოდა სელექტიურ ჰიუ-ლეივსონის გლუკოზიან არეში. *R. solanacearum* - ის ყველა იზოლატი ახდენდა D-გლუკოზის ფერმენტაციას მხოლოდ აერობულ პირობებში (უზეთო სინჯარა) (სურათი 14).



სურათი 14. გლუკოზის ფერმენტაცია 1ა - ცდის დაწყებამდე; 1ბ - ცდის შედეგი; 2 - კატალაზა ტესტი; 3 - ოქსიდაზა ტესტი; 4- KOH – ის ტესტი

ტოლერანტობა NaCl -ის მიმართ. 1%-იან და 2%-იან NaCl-ის შემცველ საკვებ არეზე ვთესავდით *R. solanacearum* - ის კულტურას და ვაკვირდებოდით ზრდას 24 სთ – იანი ინკუბაციისას 28°C –ის პირობებში. იზოლატების ნაწილი კარგად იზრდება 1% - იან NaCl-ის შემცველ საკვებ არეში, ხოლო 2% -იან NaCl-ის შემცველ საკვებ არეზე უმეტესი ნაწილი არ იზრდება, მხოლოდ ერთეული იზოლატები თუ ავლენენ სუსტ ზრდას (ცხრილი 13).

აგრეთვე, ვაკვირდებოდით *R. solanacearum* ზრდას 41 °C -ის და 40°C -ის ტემპერატურის პირობებში. მიკროორგანიზმი აღნიშნულ ტემპერატურებზე არ იზრდება. „ლევან“ - ს (ფრუქტოზის ბუნებრივი პოლიმერი) არ წარმოქმნიან საქაროზის შემცველ ნიადაგში ზრდისას. იზოლატების ნაწილს აქვს სუსტად გამოხატული ჟელატინის ჰიდროლიზის უნარი, ზოგიერთ მათგანს ეს თვისება საერთოდ არ ახასიათებს.

ცხრილი 13.

R. solanacearum-ის ქართული იზოლატების ბიოქიმიური თვისებების დახასიათება

#	<i>Ralstonia solanacearum</i> იზოლატები	ოქსიდაზა	კატალაზა	ზრდა 4°C	ზრდა 40°C	ოქსიდაცია	ფერმენტაცია	ჟელატინისჰი დროლიზი	Levan- ისწარმოქმნა	1%-იანი NaCl	2%-იანი NaCl
1	AcP1	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
2	AcP2	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
3	AcP3	+	-	-	+	+	-	-	-	+	-
4	AcP4	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
5	AcP5	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
6	AcP6	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
7	KhP7	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
8	KhP8	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
9	KhP9	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
10	KhP10	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
11	KoP11	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
12	KoP12	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
13	KoP13	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
14	KoP14	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
15	GoP15	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-
16	KoP16	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-

17	KoP17	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
18	KoP18	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
19	KoPe19	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
20	KoP20	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
21	KoP21	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
22	TsP22	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
23	TsP23	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
24	TsP24	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
25	KoT25	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
26	KuT26	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
27	ChkhT27	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
28	BBG <i>Str.</i> 28	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
29	<i>KPel.</i> 29	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
30	KoP30	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
31	KoEg31	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
32	KhP32	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
33	KhP33	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
34	KhP34	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
35	KhP35	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
36	AkhP36	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
37	AkhP37	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
38	AkhP38	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
39	AkhP39	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
40	NiP40	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
41	AkhP41	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
42	AkhP42	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
43	NiP43	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-

44	AkhP44	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
45	KoP45	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
46	KoT46	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
47	KoT47	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
48	KoT48	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
49	KoT49	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
50	KoGhT50	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
51	KeT51	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
52	KhT52	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
53	<i>KoPel</i> 53	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
54	BBG <i>Str</i> .54	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
55	AcP55	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
56	AcP56	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
57	AcP57	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
58	AcP58	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
59	AcP59	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
60	AcP60	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
61	AcP61	+	+	-	-	+	-	-	-	+	±
62	AcP62	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
63	KoP63	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
64	KoT64	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
65	KoT65	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
66	OzT66	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
67	OzT67	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
68	SaGhT68	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	±
69	SaGhT69	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
70	SaGhT70	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-

71	OzPe71	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
72	OzPe72	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
73	OzPe73	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
74	OzPe74	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
75	AkhP75	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
76	AkhP76	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
77	AkhP77	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
78	AkhqP	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
79	AkhP79	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	±
80	AkhP80	+	+	-	-	+	-	-+	-	+	-
81	AkhP81	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
82	AkhP82	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
83	BBG <i>Str.</i> 83	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
84	BBG <i>Str.</i> 84	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
85	OzT85	+	+	-	-	+	-	-	-	+	±
86	OzT86	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
87	OzT87	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
88	KhT88	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
89	KhT89	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
90	KhPe90	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
91	KhPe91	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
92	KeT92	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
93	KeT93	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
94	KePe94	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
95	KeT95	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
96	KheT96	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
97	KoP97	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-

98	AcP98	+	+	-	-	+	-	-	-	+	±
99	KePe99	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
100	AkhP100	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-
101	AkhP101	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-

ამრიგად, *R. solanacearum* - ის კულტურალურ - მორფოლოგიური და ბიოქიმიური პროფილის შესწავლისას გამოვლინდა, რომ ჩვენი საკვლევი იზოლატების ბიოქიმიური მახასიათებლები მსგავსი იყო *R. solanacearum* - ის ტიპური შტამებისა, რაც გულისხმობდა იდენტობას, უკვე არსებულ შესწავლილ შტამებთან (Hossain... 2007). კერძოდ ყველა ქართული იზოლატი იყო გრამ უარყოფითი, რასაც ადასტურებდა 3%-იანი KOH -ის ტესტის შედეგები, იყვნენ კატალაზა და ოქსიდაზა დადებითი, ახასიათებდათ გლუკოზის ფერმენტული ჟანგვა მხოლოდ ჟანგბადიან პირობებში, რაც გამოვლენილი იქნა ჰიუ-ლეიფსონის ტესტით. იზოლატები კარგად იზრდებოდნენ 1%-იანი NaCl-ის შემცველ არეში, ხოლო 2%-იანი NaCl თრგუნავდა იზოლატების უმეტესობის ზრდას, (AcP98; OzT85; AkhP79; SaGhT68; AcP61). ცნობილია, ბაქტერიის უარყოფითი დამოკიდებულება მარილიანი არისადმი (Saddler 1994). *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატები არ იზრდებოდა 41 °C -ის და 4°C -ის ტემპერატურაზე, რაც ასევე საკვლევი პათოგენის ერთ-ერთი მახასიათებელია (Bradbury 1986);

ბიოვარების გამოვლენის მიზნით, ზემოთ აღნიშნული მეთოდის (ხილეთ თავი 2.6.1.) მიხედვით შევისწავლეთ სატესტო იზოლატების მერ შაქრებისა და სპირტების უტილიზაციის უნარი. შედეგებმა აჩვენა რომ, *R. solanacearum* - ის ქართული პოპულაცია შედგება შაქრებისა და სპირტების მიმართ განსხვავებული ათვისების უნარის მქონე იზოლატებისგან. კერძოდ, იზოლატები შეიძლება დავყოთ ორ ჯგუფად: I - შტამები, რომლებიც ახდენენ ოქსიდაციას დისაქარიდებისა (ლაქტოზა, მალტოზა, ცელობიოზა) და სპირტებისა (მანიტოლო, დულციტოლი, სორბიტოლი). II - შტამები, რომლებიც აითვისებენ მხოლოდ შაქრებს და არ გააჩნიათ აღნიშნული სპირტების ოქსიდაციის უნარი. რიგი მეცნიერთა მიერ შემუშავებული სქემაზე

დაყრდნობით (Hayward 1964; He...1983) and Kumar... 1993) I ჯგუფს მიეკუთვნებიან ბიოვარ 3-ის იზოლატები, ხოლო II ჯგუფში შედიან ბიოვარ 2 -ის შტამები (ცხრილი 14).

ცხრილი 14

R. solanacearum-ის ქართული იზოლატების ბიოვარებად კლასიფიკაცია.

#	<i>Ralstonia solanacearum</i> იზოლატები	ლაქტოზა	მალტოზა	ცელობიოზა	მანიტოლი	სორბიტოლი	დულციტოლი	ბიოვარები	ჯგუფი
1	AcP1	+	+	+	-	-	-	2	II
2	AcP2	+	+	+	-	-	-	2	II
3	AcP3	+	+	+	+	+	+	3	II
4	AcP4	+	+	+	-	-	-	2	II
5	AcP5	+	+	+	-	-	-	2	II
6	AcP6	+	+	+	-	-	-	2	II
7	KhP7	+	+	+	-	-	-	2	II
8	KhP8	+	+	+	-	-	-	2	II
9	KhP9	+	+	+	-	-	-	2	II
10	KhP10	+	+	+	-	-	-	2	II
11	KoP11	+	+	+	+	+	+	3	I
12	KoP12	+	+	+	+	+	+	3	I
13	KoP13	+	+	+	-	-	-	2	II
14	KoP14	+	+	+	-	-	-	2	II
15	GoP15	+	+	+	-	-	-	2	II
16	KoP16	+	+	+	-	-	-	2	II
17	KoP17	+	+	+	-	-	-	2	II

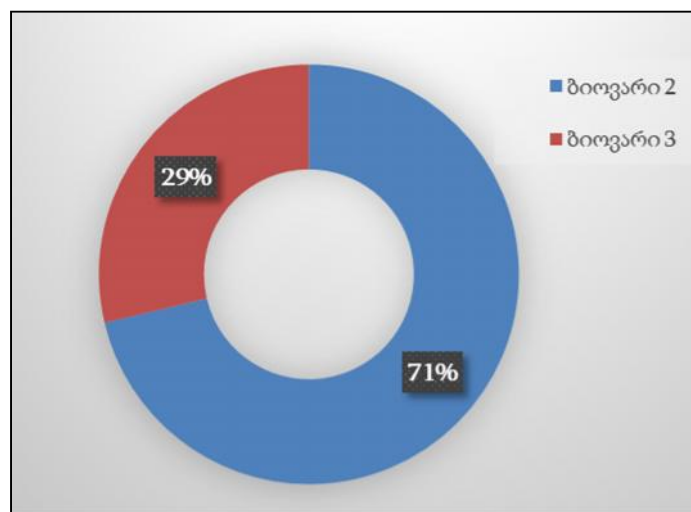
18	KoP18	+	+	+	-	-	-	2	II
29	KoPe19	+	+	+	-	-	-	2	II
20	KoP20	+	+	+	-	-	-	2	II
21	KoP21	+	+	+	-	-	-	2	II
22	TsP22	+	+	+	-	-	-	2	II
23	TsP23	+	+	+	-	-	-	2	II
24	TsP24	+	+	+	-	-	-	2	II
25	KoT25	+	+	+	-	-	-	2	II
26	KuT26	-	-	-	-	-	-	3	I
27	ChkhT27	-	-	-	-	-	-	3	I
28	BBG <i>Str.</i> 28	+	+	+	+	+	+	3	I
29	Ko <i>Pe</i> l.29	+	+	+	+	+	+	3	I
30	KoP30	+	+	+	-	-	-	2	II
31	KoEg31	+	+	+	-	-	-	2	II
32	KhP32	+	+	+	-	-	-	2	II
33	KhP33	+	+	+	-	-	-	2	II
34	KhP34	+	+	+	-	-	-	2	II
35	KhP35	+	+	+	-	-	-	2	II
36	AkhP36	+	+	+	-	-	-	2	II
37	AkhP37	+	+	+	-	-	-	2	II
38	AkhP38	+	+	+	-	-	-	2	II
39	AkhP39	+	+	+	-	-	-	2	II
40	NiP40	+	+	+	-	-	-	2	II
41	AkhP41	+	+	+	-	-	-	2	II
42	AkhP42	+	+	+	-	-	-	2	II
43	NiP43	+	+	+	-	-	-	3	I
44	AkhP44	+	+	+	-	-	-	2	II

45	KoP45	+	+	+	+	+	+	3	I
46	KoT46	+	+	+	+	+	+	3	I
47	KoT47	+	+	+	+	+	+	3	I
48	KoT48	+	+	+	+	+	+	3	I
49	KoT49	+	+	+	+	+	+	3	I
50	KoGhT50	+	+	+	-	-	-	2	II
51	KeT51	+	+	+	+	+	+	3	I
52	KhT52	+	+	+	-	-	-	2	II
53	<i>KoPel.53</i>	+	+	+	+	+	+	3	I
54	<i>BBGStr.54</i>	+	+	+	+	+	+	3	I
55	AcP55	+	+	+	-	-	-	2	II
56	AcP56	+	+	+	-	-	-	2	II
57	AcP57	+	+	+	-	-	-	2	II
58	AcP58	+	+	+	-	-	-	2	II
59	AcP59	+	+	+	-	-	-	2	II
60	AcP60	+	+	+	-	-	-	2	II
61	AcP61	+	+	+	+	+	+	3	I
62	AcP62	+	+	+	-	-	-	2	II
63	KoP63	+	+	+	-	-	-	2	II
64	KoT64	-	-	-	-	-	-	2	II
65	KoT65	+	+	+	+	+	+	3	I
66	OzT66	+	+	+	-	-	-	2	II
67	OzT67	+	+	+	-	-	-	2	II
68	SaGhT68	+	+	+	-	-	-	2	II
69	SaGhT69	+	+	+	-	-	-	2	II
70	SaGhT70	+	+	+	-	-	-	2	II
71	OzPe71	+	+	+	+	+	+	3	I

72	OzPe72	+	+	+	+	+	+	3	I
73	OzPe73	+	+	+	+	+	+	3	I
74	OzPe74	+	+	+	+	+	+	3	I
75	AkhP75	+	+	+	+	+	+	3	I
76	AkhP76	+	+	+	+	+	+	3	I
77	AkhP77	+	+	+	-	-	-	2	II
78	AkhqP	+	+	+	-	-	-	2	II
79	AkhP79	+	+	+	-	-	-	2	II
80	AkhP80	+	+	+	-	-	-	2	II
81	AkhP81	+	+	+	-	-	-	2	II
82	AkhP82	+	+	+	+	+	+	3	I
83	BBG <i>Str</i> .83	+	+	+	+	+	+	3	I
84	BBG <i>Str</i> .84	+	+	+	-	-	-	2	II
85	OzT85	+	+	+	-	-	-	2	II
86	OzT86	+	+	+	+	+	+	3	I
87	OzT87	+	+	+	-	-	-	2	II
88	KhT88	+	+	+	-	-	-	2	II
89	KhT89	+	+	+	+	+	+	3	I
90	KhPe90	+	+	+	-	-	-	2	II
91	KhPe91	+	+	+	-	-	-	2	II
92	KeT92	+	+	+	-	-	-	2	II
93	KeT93	+	+	+	+	+	+	3	I
94	KePe94	+	+	+	+	+	+	3	I
95	KeT95	+	+	+	-	-	-	2	II
96	KheT96	+	+	+	-	-	-	2	II
97	KoP97	+	+	+	-	-	-	2	II
98	AcP98	+	+	+	-	-	-	2	II

99	KePe99	+	+	+	-	-	-	2	II
100	AkhP100	+	+	+	-	-	-	2	II
101	AkhP101	+	+	+	-	-	-	2	II

ამრიგად, განხორციელებული ცდის შედეგებიდან გამომდინარე შეგვიძლია ვთქვათ რომ, ჩვენს მიერ შეგროვებული და იდენტიფიცირებული *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატების 71,28% მიეკუთვნება ბიოვარი 2-ს, ხოლო 28, 7% ბიოვარი 3-ს (დაგრამა 9).



დაგრამა 9. *R. solanacearum* - ის ქართულ პოპულაციაში არსებული ბიოვარების პროცენტული განაწილება.

3.4. პათოგენობის ტესტის შედეგები

ქართული პოპულაციის რასობრივი შემადგენლობის განსაზღვრის მიზნით ჩვენს მიერ ჩატარებულ იქნა პათოგენობის ტესტი, რომელიც ითვალისწინებდა საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში შეგროვილი *R. solanacearum* - ის იზოლატების პათოგენობის დადგენას სხვადასხვა მასპინძელი მცენარეების მიმართ. ცდები ჩატარებული იყო ფიტოპათოლოგიისა და ბიომრავალფეროვნების ინსტიტუტის და ასევე დიდი ბრიტანეთის სურსათისა და გარემოს კვლევის ლაბორატორიის (FERA) სათბურში (სურათი 19). პათოგენობის ტესტები განვახორციელეთ შემდეგ

მცენარეებზე: კარტოფილი (*Solanum tuberosum*), პომიდორი (*Lycopersicon esculentum*), ბადრიჯანი (*Solanum melongena*), წიწაკა (*Capsicum annum*) და თამბაქო (*Nicotiana tabacum*). აღნიშნული მცენარეები გაზრდილი იყო ქოთანში სტერილური ნიადაგით. სათბურში მცენარეების ზრდისათვის შექმნილი იყო ოპტიმალური პირობები: ტემპერატურა 26 °C - 28°C, ტენიანობა - 60% - 80% . მცენარეები ირწყვებოდა ყოველდღე, ინოკულაციის დღის გარდა. ცდას ვატარებდით სამჯერადი გამეორებით. თითოეულ გამეორებაში ვიკვლევდით 3 მცენარეს.

სატესტო კულტურებად ვიყენებდით სხვადასხვა მცენარიდან გამოყოფილი *R. solanacearum*-ის შტამებს, რომლებიც სხვადასხვა ბიოვარს მიეკუთვნებოდა. საინოკულაციო სუსპენზიის მოსამზადებლედ, შტამებს ვზრდიდით CPG ნიადაგზე 24-48სთ - იანი ინკუბაციის პირობებში. ერთეული კოლონიები გადაგვქონდა სტერილურ, დისტილირებულ წყალში (10^8 - 10^9 უჯრ/მლ) კონცენტრირებული ხსნარის მისაღებად. საკონტროლო მცენარეების დასნებოვნებას ვახდენდით სტერილური წყლით. ინოკულაციას ვახორციელებდით მცენარის სამი - ოთხი ჭეშმარიტი ფოთლის სტადიაზე, ღეროში ჩხვლეტის მეთოდით (სურათი 15), (Winstead and Kleman, 1952).

ინოკულირებულ მცენარეებს ვტოვებდით სათბურში, ტემპერატურისა და ტენიანობის ზემოთ აღნიშნულ პირობებში ბუნებრივი დღის სინათლის ფონზე (Williamsson... 2002; OEPP/EPPO, 1990).



სურათი 15. ინოკულაცია ინფექციური მასალით (*R. solanacearum*-ის სუსპენზია) კარტოფილის მცენარეზე

პათოგენურების ცდის მიმდინარეობაზე დაკვირვებამ გვიჩვენა, რომ საწყისი დაავადების ნიშნები, მაღალ მიმღებთან მცენარეებში ჩნდებოდა ინოკულაციიდან 5-8 დღის შემდეგ და თავდაპირველად გამოიხატებოდა იმ ფოთლებზე და ღეროს ნაწილზე, რომელთა დასნებოვნებაც მოხდა (სურათი 16). კოხის კლასიკური პოსტულატების თანახმად (<http://www.life.umd.edu/>) მცენარის სიმპტომური ნაწილიდან ვახდენდით პათოგენის რეიზოლოციას და მის შემდგომ იდენტიფიცირებას კლასიკური და მოლეკულური ბიოლოგიის მეთოდების გამოყენებით (Kelman 1954; Pastrok... 2000).



სურათი 16. *R. solanacearum*-ის პათოგენობის ტესტები; 1 -2: კარტოფილის და პომიდვრის მცენარეები ინოკულაციამდე; 3 – 4: იგივე მცენარეები ინოკულაციის შემდეგ.

მასპინძელ მცენარეებზე დაავადების განვითარებას აღვრიცხავდით დაავადების ხარისხის ბალებით, ვინსტის და კელმანის მიერ, მოწოდებული შესაბამისი შკალის მიხედვით (Winstead and Kelman, 1952). შემდეგ ვახდენდით

დაავადების ინდექსის გამოთვლას, ზემოთ აღწერილი ფორმულის მიხედვით (იხ. 2.5. თავი). ჩატარებული ცდის შედეგები მოცემულია მე 15 ცხრილში. ექსპერიმენტული მონაცემების სტატისტიკური ანალიზი მოვახდინეთ კომპიუტერული პროგრამა (Graphpad prisma 6) - ის დახმარებით, ორფაქტორიანი ANOVA - ს, მრავალჯერადი ტესტის მეთოდით. მიღებულმა შედეგებმა გვიჩვენა, რომ სანდოობის კოეფიციენტის მნიშვნელობა იცვლებოდა $P = 0,1$ დან $0,9$ - მდე, $df=4$ (დანართი 8).

ჩატარებული ცდის შედეგები საფუძველს გვაძლევს ჩვენს მიერ შესწავლილი *R. solanacearum*-ის იზოლატები დავაჯგუფოდ ორ ჯგუფად პათოგენობის მიხედვით. პირველ ჯგუფში გავაერთიანეთ იზოლატების შედარებით დიდი რიცხვი, რომლებიც მაღალვირულენტურია კარტოფილის, პომიდორის მიმართ. ამავე დროს დაბალ ან საშუალოდ ვირულენტურია ბადრიჯანის და წიწაკის მიმართ, ხოლო თამბაქოს მიმართ არ ავლენენ ვირულენტობას. მე - 2 ჯგუფი წარმოდგენილია იზოლატებით, რომლებიც მაღალ, ან საშუალოდ ვირულენტურია კარტოფილისა და პომიდორის მიმართ და დაბალ ვირულენტურია, წიწაკისა და თამბაქოს მიმართ. პირველ ჯგუფში გაერთიანებული შტამები მიეკუთვნება რასა 3 ბიოვარ - 2 - ს, ამას ადასტურებს მასპინძელი მცენარეების მხრიდან გამოვლენილი რეაქცია, რადგან ამ შტამების მიმართ მაღალმიმდებლობა ყველაზე მეტად ახასიათებს კარტოფილს და პომიდორს. მაშინ როდესაც, მეორე ჯგუფის შტამებს აქვთ მასპინძელ მცენარეთა ფართო სპექტრი და მიეკუთვნებიან რასა 1- ს (ცხრილი 15).

ცხრილი 15.

Ralstonia solanacearum -ის ქართული იზოლატების პათოგენობის მაჩვენებლები სხვადასხვა მასპინძელი მცენარეების მიმართ

#	იზოლატი	კარტოფილი		პომიდორი		ბადრიჯანი		წიწაკა		თამბაქო		რასა	ფილოტები	პათოგენური ჯგუფი
		რეჟენსი	დაავადების ხარისხი ბალეზში ს.ა.	რეჟენსი	დაავადების ხარისხი ბალეზში ს.ა.	რეჟენსი	დაავადების ხარისხი ბალეზში ს.ა.	რეჟენსი	დაავადების ხარისხი ბალეზში ს.ა.	რეჟენსი	დაავადების ხარისხი ბალეზში ს.ა.			
1	AcP1	H	4	H	3,5	M	2,5	L	1	0	0	3	II	1
2	AcP2	H	3,66	H	3	M	2,4	L	1	L	1,33	3	II	1
3	AcP5	H	4	H	4	H	3,33	L	1,33	L	1	3	II	1
4	KhP7	H	3,66	H	3,5	M	2,5	L	1	0	0,33	3	II	1
5	AcP8	H	4	H	3,66	M	2	L	1,33	0	0,33	3	II	1
6	KhP9	M	2,66	H	3,33	M	2	L	0,66	0	0	3	II	1
7	KhP3 2	M	2	M	2	L	1,66	L	0,66	0	0	3	II	1
8	KhP1 0	H	4	L	1,33	L	1,33	L	1	L	0,66	3	II	1
9	KoP1 8	H	3,66	M	2	L	1	L	0,66	0	0	3	II	1
10	KoP2 0	H	3	H	3,33	L	0,66	L	0,66	L	0,66	3	II	1

11	KhP3 3	H	3	M	2	M	2,66	M	2,66	0	0	3	II	1
12	KhP3 4	M	2,66	H	3	L	1,66	M	2,33	0	0	3	II	1
13	AcP5 5	M	2,33	H	3,33	M	2	M	2,33	L	1	3	II	1
14	AcP5 8	H	3	M	2	L	1,66	L	1,66	0	0	3	II	1
15	AcP6 0	M	2,33	L	1,66	L	1,66	M	2,66	0	0	3	II	1
16	KoT6 3	H	3,66	H	3,33	L	1	L	1,66	0	0	3	II	1
17	KoT6 4	M	2,33	H	3	M	2,33	M	2	L	1,33	3	II	1
18	OzT6 7	H	3,33	H	3,66	M	2	H	3,33	0	0,33	3	II	1
19	BBGs tr.83	M	2	L	1,66	M	2	M	2,33	L	1,66	1	II	2
20	KhPe 90	M	2,33	M	2	L	1,66	L	1,66	L	0,66	3	II	2
21	KuT2 6	M	2,33	H	3,33	H	3	H	3,33	M	2,66	1	I	2
22	Chkh T27	H	3,66	H	3,66	L	1,66	M	2	L	1,66	1	I	2
23	BBGs tr.28	M	2,33	M	2	M	2,33	L	1,33	L	1,66	1	I	2
24	koP1 1	H	3	M	2	M	2	L	1,33	L	1	1	I	2
25	KoT4 8	M	2,33	H	3,33	M	2	M	2,33	L	1,66	1	I	2
26	KoT4 9	M	2,33	H	3,66	M	2	M	2,33	M	2,33	1	I	2

27	AkhP 38	M	2	H	3,66	H	3,33	M	2	L	0,66	3	I	2
28	AcP4 1	H	3	M	2,33	M	2,66	M	2	L	1	3	I	2
29	NiP4 3	M	3	M	2,66	M	2,66	M	2,66	0	0	1	I	2
30	KoT4 7	H	3	M	2	M	2	M	2	L	1,33	1	I	2

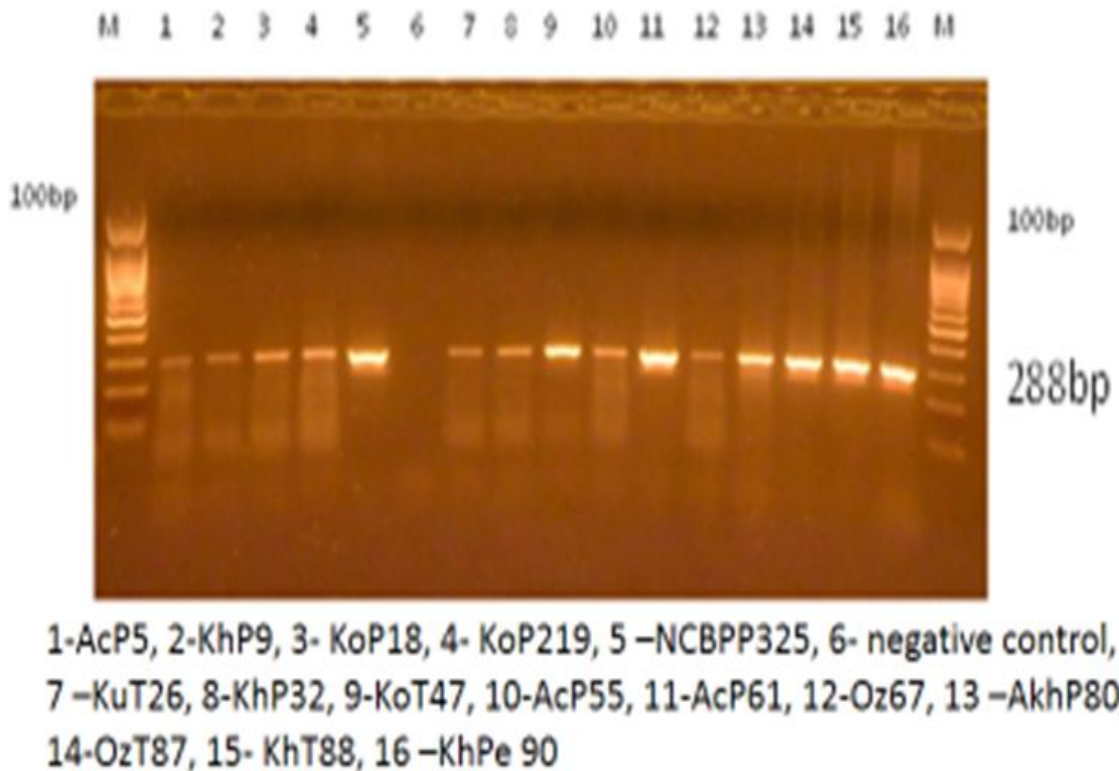
H - მაღალვირულენტური, დავადების ინდექსი = 70-100%; M - საშუალოდ ვირულენტური, დავადების ინდექსი = 41-69%; L - დაბალ ვირულენტური, დავადების ინდექსი = 40%

ამრიგად, რასების დადგენის მიზნით, განხორციელებულმა სათბურის ცდებმა გვიჩვენა რომ *R. solanacearum*-ის ქართული პოპულაცია შედგება ძირითადად ორი რასისგან. ეს არის რასა 3, რომელსაც ეკუთვნის ბიოვარი 2 -ის იზოლატები და რასა 1, რომელიც აერთიანებს ბიოვარ 3-ის იზოლატებს.

3.5. *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატების იდენტიფიცირება პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მეთოდით

R. solanacearum-ის მიღებული იზოლატების გენეტიკური იდენტიფიკაციისათვის ვიყენებდით სახეობა - სპეციფიურ, პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (პჯრ) მეთოდს. დნმ-ის გამოსაყოფად ვიყენებდით 24 - სთ - იან კულტურებს, რომელთა ზრდა ხდებოდა კაზეინიან, პეპტონიან გლუკოზის შემცველ არეზე (CPG). დნმ-ის გამოსაყოფად გამოვიყენეთ სხვადასხვა ნაკრები: (QLAamp DNA mini Kit და DNA blood kit 02/2003); GF-1 ნუკლეინის მჟავის ექსტრაქციის ნაკრები (Vivant Technology, Sdn. Bhd, მალაიზია); ზოგ შემთხვევაში ვიყენებდით დნმ-ის ხარშვის მეთოდს „Chelex“-ის დამატებით (Walsh... 1991). იდენტიფიკაცია მოვახდინეთ *R. solanacearum*-ის „უნივერსალურ“ სპეციფიკურ პრაიმერების წყვილით OLI₁/Y₂. დადებით კონტროლად გამოყენებული იყო სტანდარტული შტამი კოლექციიდან NCPPB (National Collection of plant pathogenic Bacteria) *R. solanacearum*-ის - 325. უარყოფით კონტროლად ვიყენებდით დისტილირებულ წყალს. დნმ ის ფრაგმენტების ზომის მარკერად გამოყენებული იყო 100bp დნმ ის კიბე (PLUS BLUE DNA Ladder).

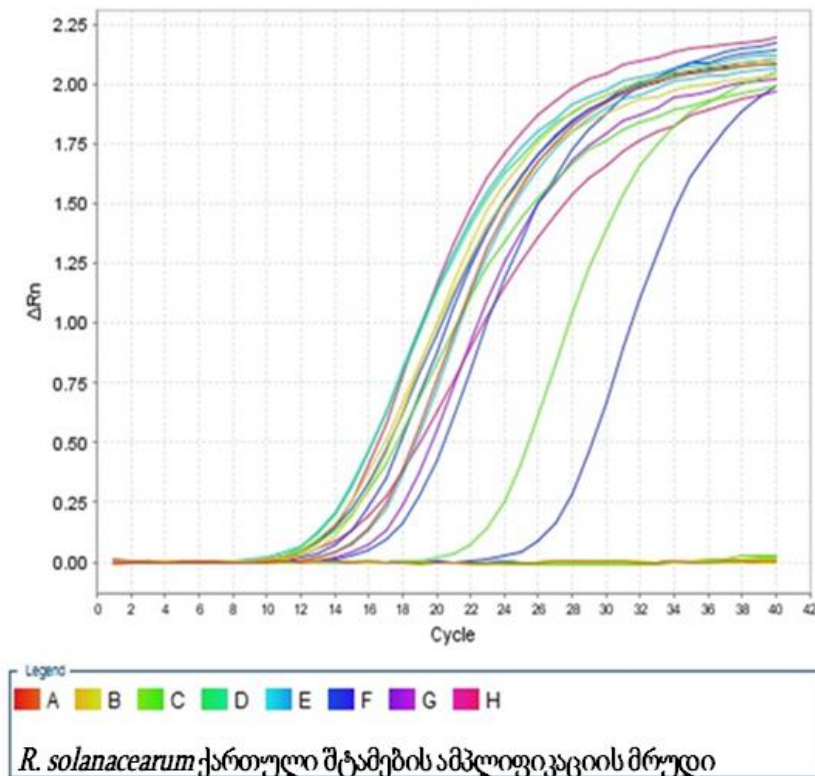
ამპლიფიცირებული პროდუქტების ვიზუალიზაციას ვახდენდით ელექტროფორეზით 1,5%- იან, 0.5მგ/მლ. აგაროზის გელში ეთიდიუმ ბრომიდის დამატებით (Pastrik... 2000). მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა, რომ საცდელი შტამების დნმ-ის ფრაგმენტის ზომები შეესაბამებოდა *R. solanacearum* - ის რეფერენტ შტამის ბენდის ზომას (სურათი 17).



სურათი 17. OLI₁/Y₂ პრაიმერებით *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატებიდან გამოყოფილი ამპლიფიცირებული დნმ-ების ელექტროფორეგრამა

ჩვენს მიერ შეგროვილ *R. solanacearum*-ის ქართულ იზოლატებზე კვლევები გავაგრძელებთ FERA -ს მოლეკულური ბიოლოგიის ლაბორატორიის ბაზაზე. კვლევის პირველ ეტაპზე ვახდენდით ქართული შტამების სიცოცხლისუნარიანობის შემოწმებას, კერძოდ ყველა იზოლატს ვთესავდით მოდიფიცირებულ სელექტიურ SMSA არეზე და ინკუბაციას ვახდენდით 28°C-ის ტემპერატურულ პირობებში, 24-48 სთ-იანი ინტერვალით. მიღებული კულტურები შეესაბამებოდა ტიპიურ *R. solanacearum*-ის კოლონიებს. შემდგომ იზოლატების დიაგნოსტიკას ვაგრძელებდით რეალურ დროის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის (Real-Time PCR) მეთოდით. საკვლევი შტამების 48სთ-იან კულტურებიდან დნმ-ის ექსტრაქცია მოვახდინეთ ხარშვის მეთოდით (Walsh... 1991). ხოლო დიაგნოსტიკა, ზემოთ აღწერილი TaqMan® -ის პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდის გამოყენებით.

მიღებულმა ცდის შედეგმა აჩვენა (სურათი 18), რომ *R. solanacearum* შტამების მაქსიმალური ფლუორესცენციული გამოსხივების ინტენსივობა შეესაბამებოდა ამპლიფიკაციის მრუდზე 1.5 დან 2.2-მდე ნიშნულს, რაც მიუთითებდა, დადებით შედეგზე.



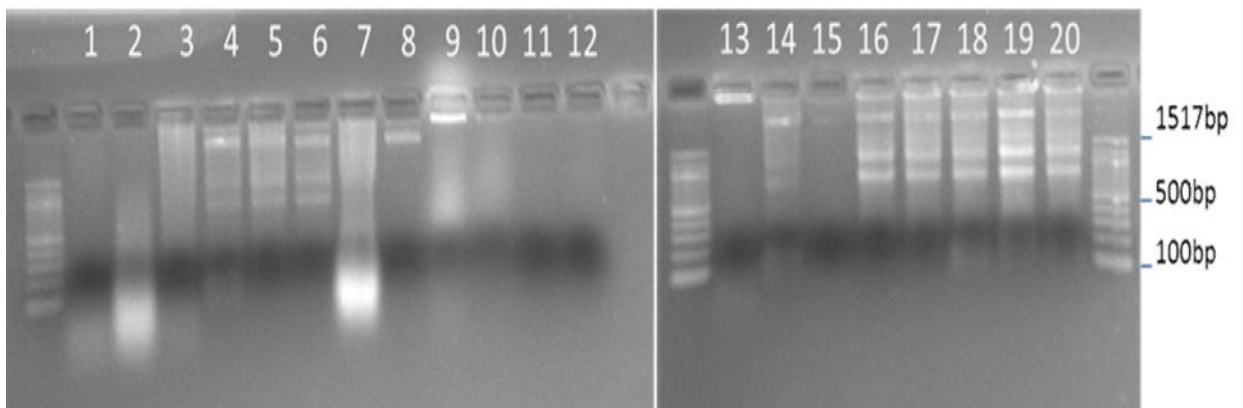
სურათი 18. *R. solanacearum* - ის დნმ-ს ექსპონენციალური ზრდის მრუდი, ამპლიფიკაციის ციკლების ზრდასთან ერთად

ამრიგად, განხორციელებული ექსპერიმენტით, კიდევ ერთხელ დადასტურდა ჩვენს მიერ შეგროვებულ ნიმუშებში *R. solanacearum* - ის არსებობა.

3.6. *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატების ენდოგლუკონაზა (Egl) გენის სექვენირება

R. solanacearum - ის ქართული იზოლატების ენდოგლუკონაზა (Egl) გენის სექვენირების განხორციელების მიზნით პირველ ეტაპზე ვსწავლობდით კვლევაში გამოყენებულ ნიმუშების დნმ-ის კონცენტრაციას და კვლევას ვაგრძელებდით იმ ნიმუშებზე, რომელთა კონცენტრაციები შეესაბამებოდა პროტოკოლით გათვალისწინებულ მოთხოვნებს (Gleasner... 2015). ნიმუშების ხარისხისა და რაოდენობრივი შეფასებისათვის მოვახდინეთ ნიმუშების დამუშავება სპეციალური პროცედურების გამოყენებით და აგაროზის გელზე შევამოწმეთ დნმ - ის ხარისხი (სურათი 19).

შედეგებმა აჩვენა რომ, ყველა ნიმუშის ხარისხი არ იყო შემდგომი ანალიზისათვის შესაბამისი (დეგრადაციის მაღალი ხარისხი), ამიტომ, დეგრადაციის ხარისხის მიხედვით მოხდა ნიმუშების შერჩევა შემდგომი კვლევისათვის.



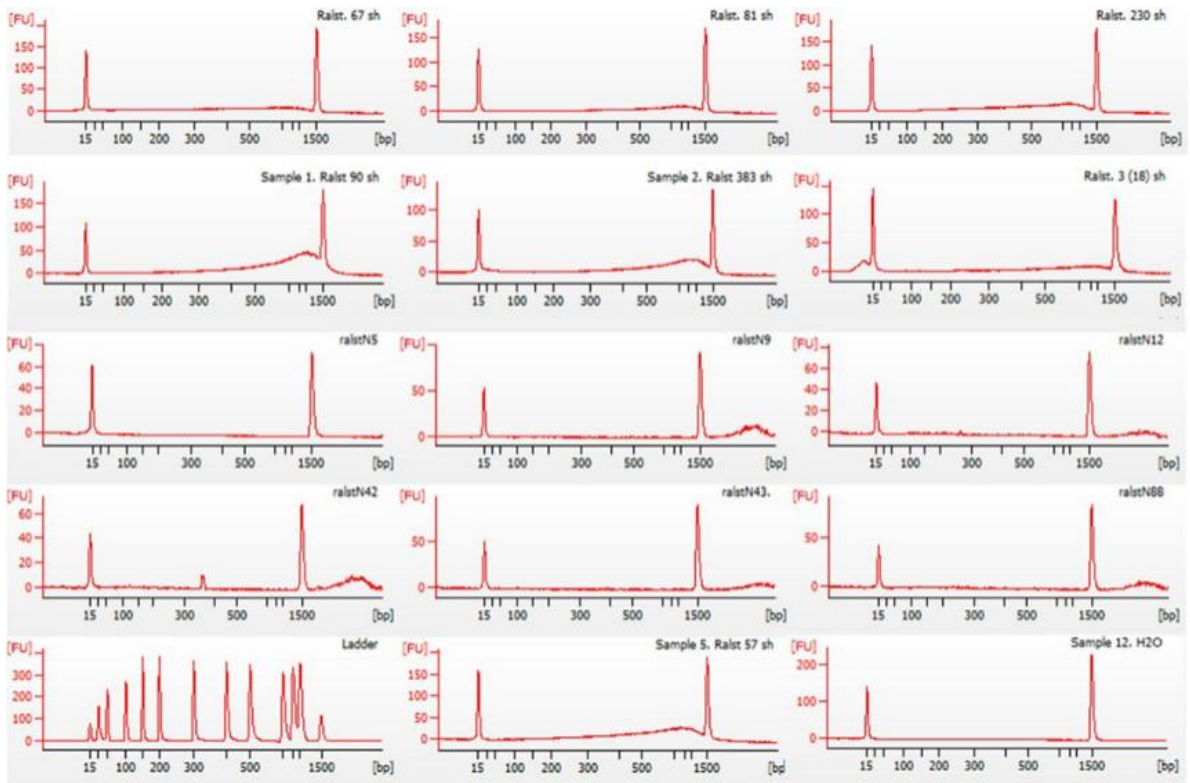
სურათი 19. აგაროზის გელში დნმ - ის ნიმუშების ხარისხის შემოწმების შედეგები.

ზოგიერთი ნიმუში ხასიათდება მაღალი დეგრადაციის ხარისხით (ნომერი 2, 7)

ნიმუშების უმეტესობა ნაკლებად არის დეგრადირებული.

შერჩეულ ნიმუშებზე ვაგრძელდა მუშაობა დნმ-ის „ბიბლიოთეკების“ (Library) მომზადების მიზნით. ნიმუშების მომზადების პროცესი მოიცავს შემდეგ ეტაპებს: დნმ - ის დაჭრა განსაზღვრული სიგრძის დნმ -ის ფრაგმენტებად, ბოლოების გასწორება, ადენილიზაცია, ადაპტორების ლიგაცია, სასურველი ფრაგმენტული ზომების შერჩევა. მიღებული დნმ - ის ხარისხის კიდევ ერთხელ შემოწმებას

ვახდენდით ბიოანალიზატორზე (BioAnalyzer 2100-ით Agilent ტექნოლოგიები, Inc.). შედეგების განალიზებამ აჩვენა, რომ ყველა ნიმუშის გამოყენება ვერ მოხერხდებოდა სექვენირებისათვის, რადგან ზოგიერთ ნიმუშის ნაწილში ფრაგმენტების ზომა დიდი იყო (მაგ. ნიმუში 9, 12, 42, 88), ზოგიერთი ნიმუში საერთოდ არ შეიცავდა დნმ -ს ფრაგმენტაციის შემდეგ (რაც მიუთითებს იმაზე, რომ დნმ მცირე ფრაგმენტებად დაიშალა), (სურათი 20).

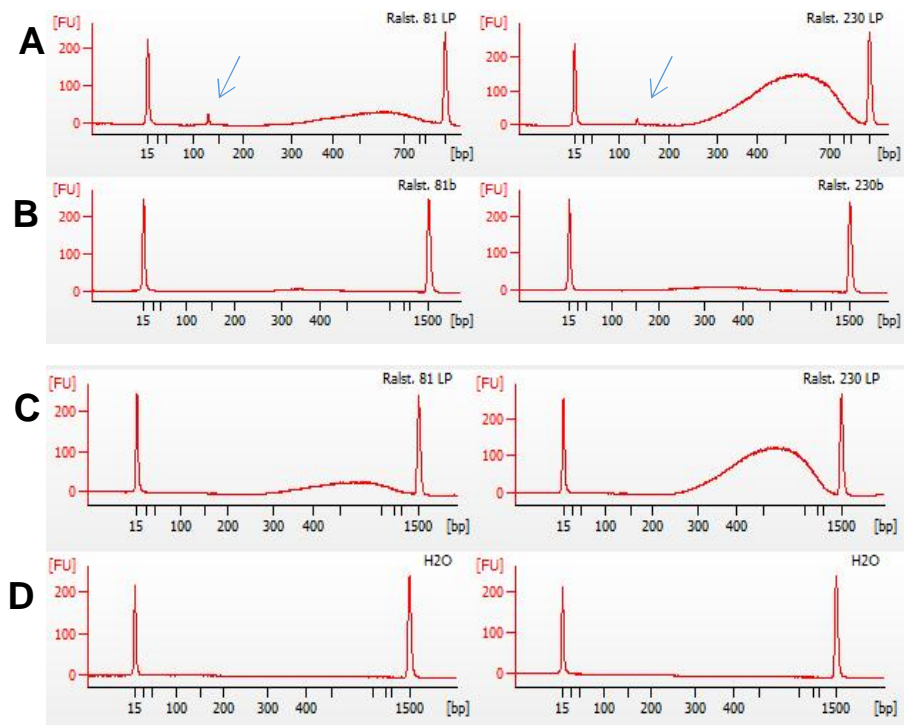


სურათი 20. ელექტროფორეგრამაზე ჩანს რომ ფრაგმენტაციის შემდეგ ნიმუშებში დნმ - ის ფრაგმენტების ზომა განსხვავებულია. შემდგომი კვლევისათვის შეირჩა ნიმუშები N18 –KoP18, 57 -AcP57, 81 -AkhP81, ნიმუში N230 (ჰოლანდია, მასპინძელი კარტოფილი, 2013). სურათზე წარმოდგენილია წყლის ნიმუში ნეგატიური კონტროლის სახით და სტანდარტული დნმ - ის ფრაგმენტების ზომის „კიბე“.

შემდგომი ეტაპია დნმ -ის „ბიბლიოთეკების“ მომზადება, რისთვისაც კიდევ ერთხელ ვახდენდით პროცედურების დასრულების შემდეგ საკვლევი ნიმუშების ხარისხის კონტროლს ბიოანალიზატორზე (სურათი 21).

ოცდამეოთხე სურათზე ნაჩვენებია, რომ ორი ნიმუშისათვის 81 - AkhP81, ნიმუში N230 (ჰოლანდია, მასპინძელი კარტოფილი, 2013), წარმოქმნილი იყო ეწ. „პრაიმერ-დიმერი“ (სურათი 24, A), რომლის მოცილებაც აუცილებელია, რათა არ მოხდეს დნმ - ის კონცენტრაციის შეცდომით გამოთვლა და აპარატმა არ მოახდინოს არასაჭირო დნმ - ის სეკვენირება. პრაიმერ-დიმერის მოცილება ნიმუშიდან ხორციელდება სტანდარტული პროცედურით, სპეციფიური რეაქტივების გამოყენებით (AMPure XP micro Beads).

გასუფთავების შემდეგ ნიმუშები მოწმდება ბიოანალიზერზე (სურათი 21, C). კონტროლად გამოიყენება დისტილირებული წყლის ნიმუშები (სურათი 21, D). ასევე ჩვენ გადავამოწმეთ გასუფთავების პროცესში ხომ არ ხდება დნმ ის გარკვეული რაოდენობის დაკარგვა. შემოწმებამ აჩვენა, რომ პროცესის შედეგად დნმ - ი არ იკარგება (სურათი 21. B).



სურათი 21. დნმ-ის ნიმუშის ელექტროფორეგრამა (ნიმუში N 81, 230) პრაიმერ-დიმერის წარმოქმნა A. მითითებულია ისრით; C. პრაიმერ-დიმერის მოშორების შემდეგ; B. პროცესის შედეგად არ ხდება დნმ - ის დაკარგვა D. კონტროლად გამოყენებულია დისტილირებული წყალი

R. solanacearum - ის შერჩეული შტამების სრული გენომის სექვენირება განვახორციელეთ ახალი თაობის სექვენატორზე (Next - gene Sequencing Illumina) - პლატფორმა MiSeq -ზე. კვლევის ამ ეტაპისათვის მოვახდინეთ მთლიანი გენომის გაშიფვრა შემდეგი 4 იზოლატისათვის: S18 – KoP18 (ქობულეთი, მასპინძელი კარტოფილი, 2012), S57 - AcP57 (ახალციხე, მასპინძელი კარტოფილი, 2014), S81 - AkhP81 (ახალქალაქი, მასპინძელი კარტოფილი, 2014), ნიმუში S230 (ჰოლანდია, მასპინძელი კარტოფილი, 2013).

სექვენსის შედეგების გასაანალიზებლად გამოვიყენეთ ბიოინფორმატიკული პროგრამა CLC Bioworkbanch v8.1. და განვახორციელეთ მონაცემების ხარისხის კონტროლი (QC). დასეკვენირებული შტამების ძირითადი სტატისტიკური მახასიათებლები მოცემულია 22-ე სურათზე.

1.4 Summary statistics S81

	Count	Average length	Total bases
Reads	6,464,704	287.1	1,856,007,248
Matched	5,383,556	287.22	1,546,258,968
Not matched	1,081,148	286.5	309,748,280
Contigs	93,689	420	39,387,313

1.4 Summary statistics S230

	Count	Average length	Total bases
Reads	9,681,100	285.67	2,765,569,019
Matched	8,620,483	284.73	2,454,489,542
Not matched	1,060,617	293.3	311,079,477
Contigs	59,658	384	22,955,160

1.4 Summary statistics S18

	Count	Average length	Total bases
Reads	9,654,743	203.39	1,963,657,384
Matched	9,444,739	204.13	1,927,969,619
Not matched	210,004	169.94	35,687,765
Contigs	16,876	676	11,414,227

1.4 Summary statistics S57

	Count	Average length	Total bases
Reads	4,406,244	273.25	1,204,017,573
Matched	3,859,911	271.59	1,048,313,123
Not matched	546,333	285	155,704,450
Contigs	44,285	535	23,722,212

სურათი 22. დასეკვენირებული შტამების სტატისტიკური მახასიათებლები

სექვენირების შედეგად მიღებული იქნა საშუალოდ 3.772.955 თანმიმდევრობა, 7.551.697 ფრაგმენტის სახით.

R. solanacearum - ის ქართული იზოლატების გენეტიკური პროფილის დასახასიათებლად ჩვენთვის მეტად საინტერესო იყო პათოგენურობის განმსაზღვრელი - ენდოგლუკონაზა გენის შესწავლა, რადგან ეს გენი მეტად სპეციფიკურია ჩვენი კვლევის ობიექტისათვის და როგორც ლიტერატურული წყაროებიდან ცნობილია, წარმოადგენს ბაქტერიის ვირულენტობის განმსაზღვრელ ერთ-ერთ ფაქტორს და წარმოაჩენს სახეობის შიგნით გენეტიკურ მრავალფეროვნებას (Saile... 1997).

ენდოგლუკონაზა გენის იდენტიფიკაციისათვის გამოვიყენეთ პრაიმერების წყვილი Endo-F (5'-ATGCATGCCGCTGGTCGCCGC-3') და Endo-R (5'-GCGTTGCCCGGCACGAACACC-3').

არსებული პროტოკოლის თანახმად პჯრ-ის შედეგად უნდა ამპლიფიცირებულიყო *Egl*-გენის 750bp ზომის უბანი (სურათი 23).



L - დნმ ის ფრაგმენტების ზომის მარკერი. ნიმუშების განაწილება გელზე: 1- ,ნეგატიური კონტროლი. 2 -ACP2; 3-ACP5; 4- KHP6; 5-KHP9; 6- KHP10; 7- KOP18; 8- KOPE19; 9 -KOP14 ; 10-KHP32; 11-KHP34; 12 -AKHP41; 13-KUT26 ; 14-KHP33; 15-ACP60; 16- OZPE72; 17- ACP55; 18- ACP61; 19- ACP62; 20- ACP57; 21-KOT65; 22- OZT67; 23- AKHP79; 24- AKHP81; 25- KHT88; 26- KOT47; 27 -NCBPP 325, 28-NCPPB4211

სურათი 23. *R. solanacearum*-ის ენდოგლუკონაზა გენის შესაბამისი ამფლიპიცირებული ფრაგმენტის ელექტროფოროგრამა

კვლევა განვაგრძეთ იმ ნიმუშებზე, სადაც თვალსაჩინო იყო, *Egl* -ის ამპლიფიკაცია, შემდეგ ვახდენდით პჯრ პროდუქტის გასუფთავებას და

სექვენირებას. შერჩეული სექვენირებული იზოლატების სია შესაბამისი ფილოგენეტიკური მახასიათებლებით მოცემულია მე -16 ცხრილში.

ცხრილი 16.

ფილოგენეტიკურად შესწავლილი *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატების
სია

#	იზოლატი	შემთხვევისადგილი	მასპინძელი მცენარე	შემთხვევის დრო	ფილოგენეტიკური ჯგუფი	რასა /ბიოვარი
1	AcP2	ახალციხე	კარტოფილი, ჯიშშიმარაბელი	2011	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
2	AcP5	ახალციხე	კარტოფილი ჯიში ჯელი	2011	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
3	KhP6	ხულო	კარტოფილი ჯიში პიკასო	2011	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
4	KhP9	ხულო	კარტოფილი ჯიში მარფონა	2011	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
5	KoP18	ქობულეთი, ინსტიტუტის, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი ჯიში მარფონა	2012	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
6	KoPe19	ქობულეთი	წიწაკა	2012	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
7	KhP32	ხულო	კარტოფილი ჯიში ვიქტორია	2013	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
8	KhP34	ხულო	კარტოფილი, ჯიში დეზირე	2013	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
9	AkhP41	ახალქალაქი	კარტოფილი	2013	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
10	AcP55	ახალციხე, დაბა წნისი	კარტოფილი, ჯიში იმპალა	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
11	AcP61	ახალციხე, სოფ: მსხვირისი N1 მინდორი	კარტოფილი	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
12	AcP62	ახალციხე, სოფ: მსხვირისი N2 მინდორი	კარტოფილი	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII

13	AcP57	ახალციხე, დაბა წნისი, ელკანას საცდელი მეურნეობა.	კარტოფილი ჯიში პიკასო	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
14	KoT65	ქობულეთი, სოფ. ხუცუბანი	პომიდორი	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
15	OzT67	ოზურგეთი, სოფ.ძიმისი	პომიდორი	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
16	AkhP79	ახალქალაქი, „აგრო ქართუს“ საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი ჯიში იმპალა	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
17	AkhP81	ახალქალაქი, სოფ: რუსთავი, N2 მინდორი	კარტოფილი	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
18	KhT88	ხულო სოფ. ქედლები	პომიდორი	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
19	KhPe90	ხულო სოფ.დეკანოს იძეები	წიწაკა	2014	ფილოტიპი I I	რ3/ბII
20	KoT47	ქობულეთი	პომიდორი	2013	ფილოტიპი I	რასა 1

ჩვენი კვლევის მიზანს წარმოადგენდა *Egl* –გენის სტრუქტურის საფუძველზე, გამოგვევლინა *R. solanacearum* - ის ქართული პოპულაციის შიდასახეობრივი მრავალფეროვნება. შექვენირებული ნიმუშების მონაცემები გავაერთიანეთ და მოვახდინეთ მათი შედარებითი ანალიზი. სურათი 24 ნათლად წარმოაჩენს ქართულ იზოლატებს შორის არსებულ მსგავსება - განსხვავებებს ნუკლეოტიდური მიმდევრობის მიხედვით. *R. solanacearum* KoT47, რომლის მასპინძელია პომიდორი, ხოლო გავრცელების ადგილი - ქობულეთი, სრულიად განსხვავდება დანარჩენი იზოლატებისგან. პირველი ტრიპლეტის ნუკლეოტიდური ფუძეების თანმიმდევრობა ყველა ნიმუშში მსგავსია და წარმოდგენილია თიმინით, გუანინით და ციტოზინით (TGC), მაშინ როცა ნიმუშ KoT47-ის შემთხვევაში ის სრულიად განსხვავებულია თანმიმდევრობით - ციტოზინი, თიმინი, თიმინი (CTT) (სურათი 24). იზოლატი KhP34 და AKh41 ძალიან ახლოს არიან, ასევე *R. solanacearum* KoP18, KoP19, AcP2 და KhP32 მსგავსი არიან ნუკლეოტიდური უბნების მონაცვლეობით.

K31												
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	All frequencies are averages over all taxa.											
2	Relative synonymous codon usage is given in parantheses following the codon frequency											
3												
4	Domain: Data											
5	Codon	Count	RSCU	Codon	Count	RSCU	Codon	Count	RSCU	Codon	Count	RSCU
6	UUU(F)	0.9	0.55	UCU(S)	1.9	0.59	UAU(Y)	0.8	0.42	UGU(C)	3.6	0.67
7	UUC(F)	2.4	1.45	UCC(S)	3.1	0.96	UAC(Y)	2.8	1.58	UGC(C)	7.3	1.33
8	UUA(L)	0.3	0.15	UCA(S)	2.4	0.71	UAA(*)	0.1	0.03	UGA(*)	4	2.72
9	UUG(L)	0.9	0.41	UCG(S)	4.8	1.46	UAG(*)	0.3	0.24	UGG(W)	3.4	1
10	CUU(L)	1.4	0.63	CCU(P)	4.3	0.75	CAU(H)	1.9	0.45	CGU(R)	5.7	0.8
11	CUC(L)	3	1.28	CCC(P)	2.3	0.41	CAC(H)	6.8	1.55	CGC(R)	11.8	1.65
12	CUA(L)	3.3	1.41	CCA(P)	6.5	1.16	CAA(Q)	7	1.14	CGA(R)	7.5	1.05
13	CUG(L)	4.9	2.12	CCG(P)	9.6	1.69	CAG(Q)	5.3	0.86	CGG(R)	14.1	1.97
14	AUU(I)	0.3	0.31	ACU(T)	2.4	0.57	AAU(N)	0.6	0.27	AGU(S)	1.6	0.5
15	AUC(I)	2.6	2.37	ACC(T)	4	0.98	AAC(N)	3.6	1.73	AGC(S)	5.8	1.78
16	AUA(I)	0.3	0.31	ACA(T)	3	0.74	AAA(K)	0.7	0.5	AGA(R)	1.1	0.15
17	AUG(M)	2.4	1	ACG(T)	7.1	1.72	AAG(K)	2.1	1.5	AGG(R)	2.8	0.39
18	GUU(V)	3.1	0.79	GCU(A)	6	0.66	GAU(D)	2.6	0.71	GGU(G)	5.8	1
19	GUC(V)	3.5	0.86	GCC(A)	9.9	1.09	GAC(D)	4.8	1.29	GGC(G)	10.5	1.82
20	GUA(V)	1.4	0.36	GCA(A)	7.8	0.86	GAA(E)	2.3	0.75	GGA(G)	2.3	0.4
21	GUG(V)	8	1.99	GCG(A)	12.7	1.4	GAG(E)	3.9	1.25	GGG(G)	4.5	0.78
22	Average# codons=264											

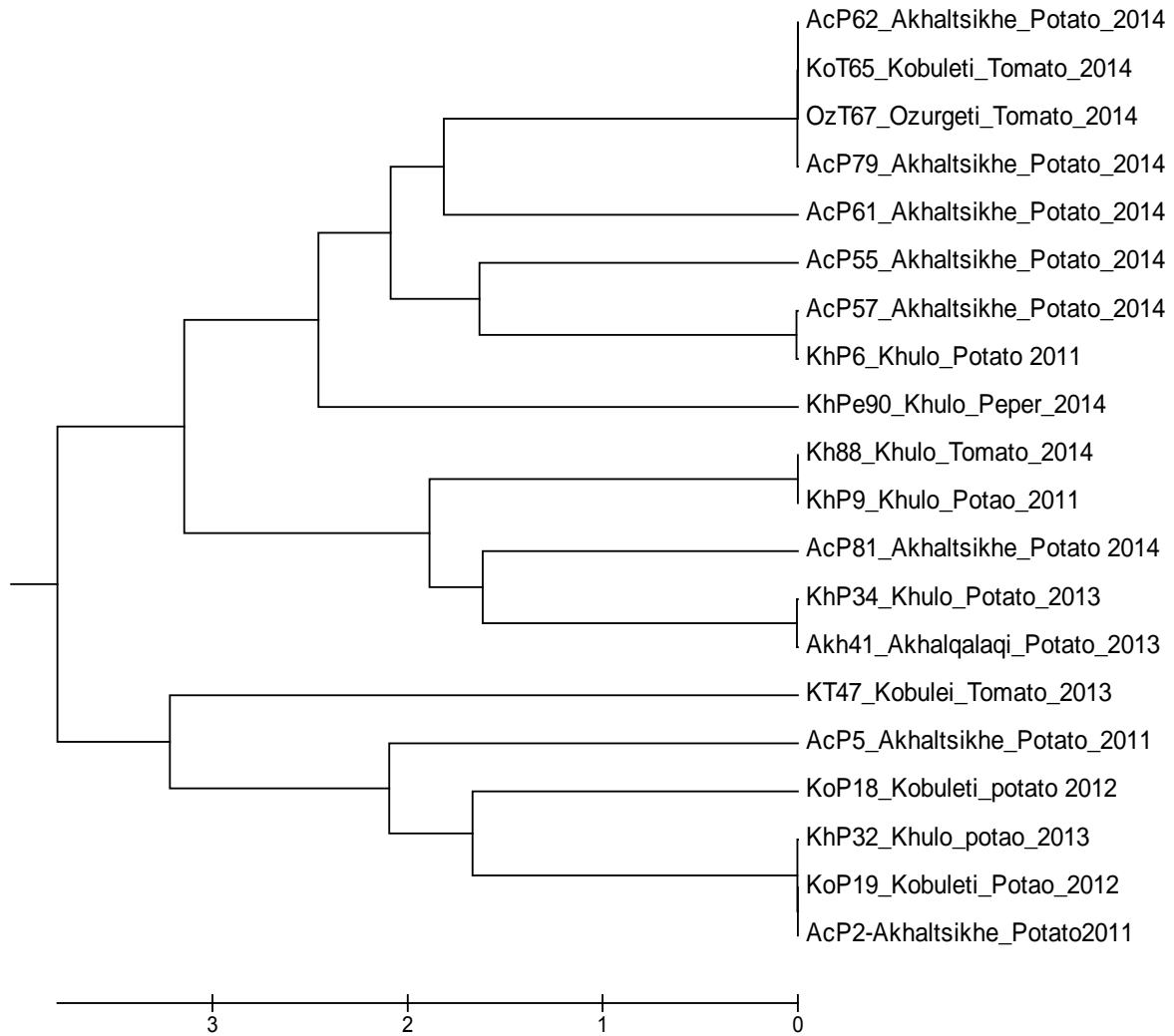
სურათი 26. მსგავსი კოდონების შეხვედრის სიხშირე

ჰომოლოგიური და ვარიაციული უბნები კიდევ უფრო თვალსაჩინოა ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობების ამინომჟავურ ენაზე ტრანსლაციისას. სურათი 27 წარმოაჩენს სრულიად იდენტურ და მეტნაკლებად ვარიაციულ ამინომჟავური უბნების არსებობას ქართული იზოლატების დასექვენირებულ ნიმუშებში. *R. solanaceum* KhP34 და AKh41 შესაბამისად იდენტურია ამინომჟავურ თანმიმდევრობის მიხედვითაც. ტრპლეტი - თიმინი, გუანინი და ციტოზინი (TGC), აკოდირებს ამინომჟავა ცისტეინს, რომელიც საერთოა ყველა ნიმუშისათვის გარდა *R. solanacearum* KoT47-ისა, რომლის საწყისი ამინომჟავაა ლიზინი.

R. solanacearum-ის ქართული იზოლატების სექვენირებული ნიმუშების სტატისტიკურ მონაცემების ცხრილი

#	<i>R. solanacearum</i> -ის ქართული იზოლატები	ნუკლეოტიდური ფუძეების შეხვედრის სიხშირე ტრიპლეტის პირველ, მეორე და მესამე პოზიციაზე																			
		T(U)	C	A	G	Total	T-1	C-1	A-1	G-1	Pos #1	T-2	C-2	A-2	G-2	Pos #2	T-3	C-3	A-3	G-3	Pos #3
1	KhP34_Khulo_Potato_2013	15.4	33.7	17.2	33.8	793.0	9	50.2	1.9	39.2	265.0	16	20.1	28.0	35.6	264.0	21	30.7	21.6	26.5	264.0
2	Akh41_Akhalqalaqi_Potato_2013	15.3	33.8	17.2	33.7	792.0	17	20.4	27.9	35.1	265.0	21	30.3	21.6	26.9	264.0	8	51.0	1.9	39.2	263.0
3	KT47_Kobulei_Tomato_2013	13.9	35.2	16.6	34.3	793.0	5	54.3	1.1	39.6	265.0	15	19.3	26.9	38.6	264.0	22	31.8	22.0	24.6	264.0
4	KP18_Kobuleti_potato_2012	15.3	33.9	17.2	33.7	793.0	8	50.9	1.9	39.2	265.0	16	19.7	28.0	36.0	264.0	22	31.1	21.6	25.8	264.0
5	KP19_Kobuleti_Potao_2012	15.1	33.8	17.4	33.7	781.0	8	50.8	2.3	39.2	260.0	17	20.0	28.1	35.4	260.0	21	30.7	21.8	26.4	261.0
6	AcP2-Akhaltsikhe_Potato2011	15.4	33.7	17.2	33.8	793.0	17	19.6	27.9	35.8	265.0	22	30.7	21.6	26.1	264.0	8	50.8	1.9	39.4	264.0
7	KhP32_Khulo_potao_2013	15.4	33.7	17.3	33.7	793.0	22	30.9	21.9	25.7	265.0	8	50.4	1.9	39.4	264.0	16	19.7	28.0	36.0	264.0
8	AcP5_Akhaltsikhe_Potato_2011	15.4	33.8	17.2	33.7	793.0	22	30.9	21.5	25.3	265.0	8	50.4	1.9	39.8	264.0	16	20.1	28.0	36.0	264.0
9	AcP55_Akhaltsikhe_Potato_2014	15.5	33.5	17.3	33.7	793.0	9	50.2	1.9	38.9	265.0	16	19.7	28.0	36.0	264.0	21	30.7	22.0	26.1	264.0
10	AcP57_Akhaltsikhe_Potato_2014	15.4	33.7	17.2	33.8	793.0	16	20.0	27.9	35.8	265.0	22	30.7	21.6	26.1	264.0	8	50.4	1.9	39.4	264.0
11	KhP6_Khulo_Potato_2011	15.3	33.8	17.2	33.8	793.0	16	19.6	27.9	36.6	265.0	22	31.4	21.6	25.4	264.0	8	50.4	1.9	39.4	264.0
12	AcP61_Akhaltsikhe_Potato_2014	15.3	33.8	17.2	33.8	793.0	22	30.6	21.5	25.7	265.0	8	50.8	1.9	39.8	264.0	16	20.1	28.0	36.0	264.0
13	AcP62_Akhaltsikhe_Potato_2014	15.5	33.5	17.2	33.8	793.0	17	19.6	27.9	35.8	265.0	22	30.7	21.6	26.1	264.0	8	50.4	1.9	39.4	264.0
14	KT65_Kobuleti_Tomato_2014	15.4	33.7	17.2	33.8	793.0	8	50.6	1.9	39.6	265.0	17	19.7	28.0	35.6	264.0	22	30.7	21.6	26.1	264.0
15	OzT67_Ozurgeti_Tomato_2014	15.4	33.8	17.2	33.6	792.0	8	50.4	1.9	39.4	264.0	16	20.5	28.0	35.6	264.0	22	30.7	21.6	25.8	264.0
16	AcP79_Akhaltsikhe_Potato_2014	15.4	33.7	17.3	33.7	793.0	21	30.6	21.9	26.4	265.0	9	50.4	1.9	39.0	264.0	16	20.1	28.0	35.6	264.0
17	AcP81_Akhaltsikhe_Potato_2014	15.4	33.8	17.2	33.6	792.0	8	50.6	1.9	39.2	265.0	16	20.5	28.0	35.2	264.0	22	30.4	21.7	26.2	263.0
18	Kh88_Khulo_Tomato_2014	15.5	33.5	17.2	33.8	793.0	22	30.6	21.5	26.0	265.0	8	50.4	1.9	39.4	264.0	16	19.7	28.0	36.0	264.0
19	KhP9_Khulo_Potao_2011	15.4	33.7	17.2	33.8	793.0	22	30.9	21.5	26.0	265.0	8	50.4	1.9	39.4	264.0	16	19.7	28.0	36.0	264.0
20	KhPe90_Khulo_Peper_2014	15.4	33.8	17.2	33.7	793.0	22	31.3	21.5	25.7	265.0	8	50.4	1.9	39.4	264.0	16	19.7	28.0	36.0	264.0
	Avg.	15.3	33.8	17.2	33.8	792.3	15	36.1	15.3	33.7	264.7	15	33.3	17.2	34.7	263.8	16	31.9	19.0	32.8	263.8

მიღებული შედეგების ნუკლეოტიდური სექვენსების გაანალიზება მოვახდინეთ კომპიუტერული პროგრამა MEGA6 უზრუნველყოფით. სექვენირებულ ქართულ იზოლატებს შორის ევოლუციური კავშირის დასადგენად, ავაგეთ ფილოგენეტიკური ხე (სურათი 28), რომლის შესაქმნელად გამოვიყენეთ UPGMA კლასტერული მეთოდი (Sneath... 1973). შედეგებმა აჩვენა რომ, ფილოგენეტიკური ხის განშტოებებს შორის საშუალო, ოპტიმალური სიგრძეა =29.23125143. ეს მანძილი გამოხატავს ქართულ იზოლატებს შორის ევოლუციურ მსგავსება - განსხვავების ხარისხს, რაც აისახება ფილოგენეტიკურ ხეზე იგივე მანძილებით. მანძილი იზოლატებს შორის გამოითვლება მაქსიმალური ალბათობის მეთოდით (Tamura... 2004). ერთეულად მიჩნეულია ყოველ უბანზე ცვლადი ნუკლეოტიდური ფუძის რიცხვი. ანალიზი მოიცავს 20 ნუკლეოტიდურ სექვენსს. ყველა პოზიციაზე აღმოფხვრილია ხარვეზები და დაკარგული მონაცემები. საბოლოო ნუკლეოტიდური ნაკრები წარმოდგენილი იყო 592 პოზიციით. ფილოგენეტიკური ანალიზი განვახორციელეთ კომპიუტერული პროგრამა MEGA6 უზრუნველყოფით (Tamura, 2016).

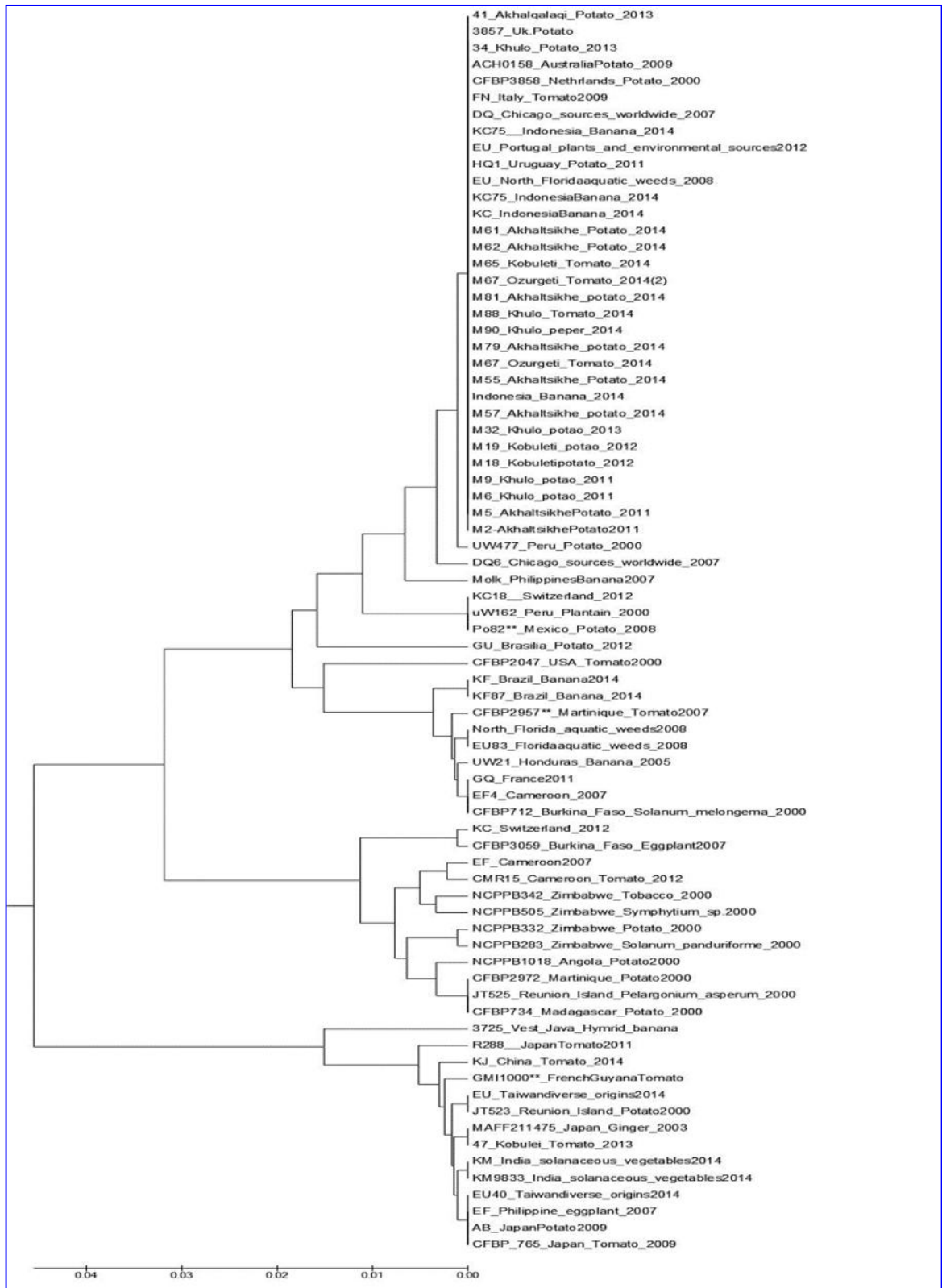


სურათი 28. *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატების ფილოგენეტიკური ხე, აგებული UPGMA კლასტერული მეთოდით, სექვენირებული ენდოგლუკონაზა გენის მონაცემების საფუძველზე

შესწავლილი ნიმუშების ფილოგენეტიკურმა ანალიზმა გვიჩვენა რომ, *R. solanacearum* - ის იზოლატები - KP19, KT65, KhP34, OzT67 სექვენსური თანმიმდევრობით იყვნენ ერთმანეთის მსგავსი, ამიტომ დალაგდნენ ახლოს. *R. solanacearum* KHP6 და *R. solanacearum* AcP57 კი, დაჯგუფდნენ ერთ კლასტერში, რადგან ახასიათებდათ მსგავსი ვარიანტული უბნები. ერთმანეთის მსგავსი აღმოჩნდა ნიმუში KhT88 და KhP9, ხოლო იზოლატები KhP34, Akh41 ერთმანეთის (სურათი 28). ზოგადად, გაანალიზებული იზოლატების უმრავლესობა ერთ დიდ კლასტერულ ჯგუფში გაერთიანდნენ ხოლო ერთი შტამი *R. solanacearum* KoT47 აღმოჩნდა სრულიად

განსხვავებული, რაზეც მეტყველებს სტატისტიკური მონაცემები (ცხრილი 17). მიღებული კვლევის შედეგებიდან გამომდინარე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ ჩვენს მიერ შეწავლილი *R. solanacearum* ქართული იზოლატები წარმოადგენენ ორ სხვადასხვა პოპულაციას (სურათი 28).

ჩვენი კვლევის შედეგები შევადარეთ გლობალურ მონაცემებთან (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>) რათა, გამოგვევლინა ქართული ფილოგენეტიკური ჯგუფების წარმომავლობა და რაობა. კვლევაში გამოვიყენეთ FERA -ს მოლეკულური ბიოლოგიის ლაბორატორიის საცავში არსებული *R. solanacearum* სტანდარტული შტამების შესახებ მონაცემები <http://ncppb.fera.defra.gov.uk/>. გარდა ამისა, მოვახდინეთ ჩვენი დასექვენირებული ნიმუშების შედარება გენბანკში უკვე შესწავლილი და რეფერირებული *R. solanacearum* - ის შტამებთან <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>, რომლებიც სხვადასხვა ფილოტიპურ ჯგუფს მიეკუთვნება (დანართი 2). გავაერთიანეთ შტამების სექვენსების მონაცემები (დანართი 9) და შედარებითი ანალიზისათვის ავაგეთ ფილოგენეტიკური ხე (სურათი 29).



სურათი 29. *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატებისა და სხვასხვა წარმოშობის რეფერენს შტამებისგან შექმნილი ფილოგენეტიკური ხე

R. solanacearum - ის ქართულ იზოლატებსა და სხვადასხვა წარმოშობის რეფერენს შტამებს შორის ევოლუციური კავშირის დასადგენად გამოვიყენეთ UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) კლასტერული მეთოდი (Sneath... 1973). სექვენირების შედეგებმა აჩვენა რომ, ფილოგენეტიკური ხის განშტოებებს შორის საშუალო სიგრძეა = 22.36728122. სულ გაანალიზებულია 67 შტამის სექვენსი. კოდონები მოიცავს ინფორმაციას, როგორც ტრიპლეტის პირველ, მეორე და მესამე პოზიციაზე ასევე არაკოდონურ უბნებზე (ყველა პოზიციაზე ხარვეზების და დაკარგული მონაცემების აღმოფხვრით). ფილოგენეტიკური ანალიზი განხორციელებული იქნა კომპიუტერული პროგრამა MEGA6 უზრუნველყოფით (Tamura 2013).

გაანალიზებული ნიმუშების კლასტერებად დაჯგუფებისას გამოიკვეთა შემდეგი სურათი: *R. solanacearum* - ის ქართული შტამების უმეტესობა დაჯგუფდა ერთ კლასტერულ ჯგუფად, რომლებიც ძალიან ახლოს იდგნენ ინდონეზიის შტამთან - KC75, რომელიც გამოყოფილი იყო დაავადებული ბანანიდან 2014 წელს. ორი იზოლატი: *R. solanacearum* KhP34 და *R. solanacearum* AkhP41 ახლოს მდგომია შტამებთან: 3857 UK (კარტოფილი, დიდი ბრიტანეთი), CFBP 3858 (კარტოფილი, ნიდერლანდები, 2000) და ACHO 158 (კარტოფილი, ავსტრალია, 2009). მათგან განსხვავებით იზოლატი *R. solanacearum* KoT47 მოხვდა სხვა კლასტერულ ჯგუფში, ახლოს იაპონურ იზოლატთან - MAFF 2011475 (სანელებელი მცენარე ჯანჯაფილი, იაპონია, 2003).

შესწავლილი შტამების ფილოგენეტიკური ანალიზით უნდა აღინიშნოს, რომ *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატების რეფერენს შტამებთან შედარებისას მათი უმეტესი ნაწილი მიეკუთვნა ფილოტიპ IIB / სექვოვარ 1 (IIB1), რომელიც საყოველთაოდ ცნობილია, როგორც რასა 3 ბიოვარი 2 (Janse, 1996; Janse... 2004; Sanchez-Perez, 2008; Siri... 2011). ეს არის ე.წ. პანდემიური რასა, რომელიც გავრცელებულია მთელს მსოფლიოში. არსებობს მოსაზრება, რომ აღნიშნული რასის გავრცელებას ხელი შეუწყო ლატენტურად ინფიცირებული სათესლე კარტოფილის იმპორტმა იმ რეგიონებიდან, სადაც დაავადება პანდემიის ხასიათს ატარებს (Janse... 1996; Cellier and Prior, 2010; Wicker... 2011).

II ფილოტიპის შტამები წარმოშობილია ცენტრალურ და სამხრეთ ამერიკაში, მაგრამ არ გვხვდება ჩრდილოეთ ამერიკაში, სადაც *R. solanacearum* აგრო ტერორიზმის აგენტა სიაში არის შეყვანილი (Swanson... 2005). გარდა ამისა, იგი საკარანტინო მიკროორგანიზმია დიდ ბრიტანეთში, ევროკავშირის მრავალ ქვეყანაში და მათ შორის საქართველოშიც.

საინტერესო შედეგი გამოვლინდა *R. solanacearum* KoT47 ანალიზისას. ამ იზოლატის (მიღებული იყო ქობულეთში პომიდვრის ნიმუშიდან) ენდოგლუკონაზა გენის სექვენსური თანმიმდევრობა, ძალიან ახლოსაა იაპონიაში გავრცელებულ მცენარე ჯანჯაფილიდან მიღებულ *R. solanacearum* -ის იზოლატთან და შესაბამისად ეს ორი შტამი ერთიანდება იმ კლასტერულ ჯგუფში, სადაც შედის ფილოტიპი I რეფერენს შტამები. ვარუდობენ, რომ, ამ ფილოტიპში გაერთიანებული შტამები წარმოშობილია აზიიდან. II ფილოტიპის შტამებთან შედარებით მათ ახასიათებთ ზრდის მაღალი ოპტიმალური ტემპერატურა და გამოირჩევიან პატრონ მცენარეთა ფართო სპექტრით.

ლიტერატურული წყაროებიდან (Swanson... 2005; Nelson... 2013) ცნობილია, როგორც კარტოფილის ტუბერები, ასევე ჯანჯაფილის ფესვებიც ადვილად ინფიცირდება ბაქტერია *R. solanacearum* - ით და ლატენტურად ინფიცირებული სათესლე მასალის ექსპორტი წარმოადგენს დაავადების გავრცელების მაღალ რისკ ფაქტორს მთელს მსოფლიოში (Pegg... 1974; Indrasenan... 1981; Kumar... 2002).

ამრიგად, ჩვენს მიერ განხორციელებული კვლევებიდან გამომდინარე, შეგვიძლია ვთქვათ, რომ საქართველოში ამჟამად გავრცელებულია *R. solanacearum* ორი ფილოგენეტიკური ჯგუფი: ფილოტიპი IIB და ფილოტიპი I, რომელთაც სხვადასხვა წარმოშობა აქვთ. IIB ფილოტიპი შტამები არიან ძირითადად ევროპული წარმოშობის და მათი ზრდის ოპტიმალური ტემპერატურა შედარებით დაბალია (Kim... 2003; Daughtrey 2003). რასა 3 ბიოვარი 2 -ის შტამები გვხვდება მთიან რეგიონებში (სამცხე-ჯავახეთი, ზემო აჭარა), სადაც კლიმატი ცივია. აღნიშნული რეგიონები ჩვენი ქვეყნისათვის მეკარტოფილეობის ზონებად ითვლება, ამიტომ ეს ფაქტი განსაკუთრებით საყურადღებოა. გარდა ამისა, ამ ჯგუფს მიეკუთვნება აგრეთვე შტამები, რომლებიც გამოყოფილია სხვადასხვა მასპინძელი მცენარეებიდან,

როგორცაა კარტოფილი, პომიდორი, წიწაკა, რომელთა გავრცელების ადგილი მოიცავს საქართველოს სხვადასხვა რეგიონს.

ფილოტიპი I, რომელიც აერთიანებს 3,4,5 ბიოვარს აქვთ აზიური წარმოშობა (Seal... 1999; Poussier... 1999). პათოგენის ზრდა - განვითარებისათვის ოპტიმალური ტემპერატურაა 30-32⁰ C . ფილოტიპი I -ის ჯგუფში შედიან *R. solanacearum*-ის ის შტამები, რომლებიც გავრცელებული იყო დასავლეთ საქართველოს სუბტროპიკულ ზონაში (ქობულეთის რაიონი), სადაც კლიმატი ცხელი და უხვ ნალექიანია. ასეთი კლიმატი კი ხელსაყრელია პათოგენის არსებობისა და გავრცელებისათვის.

მიღებული მონაცემებით შეგვიძლია გამოვიტანოთ დასკვნა, რომ ამჟამად საქართველოში ცირკულირებს ორი სხვადასხვა პოპულაცია და ყავს მრავალი მასპინძელი მცენარე (კარტოფილი, პომიდორი, წიწაკა, ბადრიჯანი და დეკორატიული მცენარეები), რაც მიუთითებს პოპულაციის ჰეტეროგენულობაზე. გარდა ამისა, ჩვენი კვლევების საფუძველზე დავადგინეთ რომ, სამცხე-ჯავახეთში გავრცელებულია *R. solanacearum* -ის პანდემური რასა 3 ბიოვარი 2 რომლის, გავრცელების ინტენსივობა საკმაოდ მაღალია. ცნობილია რომ, ეს რასა ფართოდაა გავრცელებული მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში და ზარალი ყოველ წელს მილიონობით დოლარს შეადგენს (Floyd, 2007). სამცხე-ჯავახეთის რეგიონი ჩვენი ქვეყნისათვის მეკარტოფილეობის ზონად ითვლება, აღმოჩნდა რომ პათოგენი კარგად ადაპტირებულია მაღალმთიან, გრილ კლიმატურ პირობებთან, ამ ფაქტის გამოვლენა მეტად მნიშვნელოვანი და საყურადღებოა.

ჩვენი შემდგომი კვლევა მოიცავს ბრძოლის უსაფრთხო, ბიოლოგიური ღონისძიებების გატარებას, ბაქტერიოფაგების გამოყენებით *R. solanacearum*-ით გამოწვეული მცენარეთა ბაქტერიოზების წინააღმდეგ. რომელიც ითვალისწინებს შესაბამისად პათოგენის მიმართ მგრძობიარე ბაქტერიული ვირუსების გამოვლენას და ლიზისური სპექტრის შესწავლას.

3.7. სპეციფიური ბაქტერიოფაგების მგრძობელობის შესწავლა *R. solanacearum* -ის ქართული იზოლატების მიმართ

მიმდინარე კვლევის პერიოდში *R. solanacearum* - ის მიმართ სპეციფიკური ბაქტერიოფაგების გავრცელების შესწავლის მიზნით, გამოვიკვლიეთ საქართველოს სხვადასხვა მდინარეებიდან აღებული წყლის სინჯები და ნიადაგის ნიმუშები. მონიტორინგი მოიცავდა ახალციხის, ბორჯომ-წაღვერის და ქობულეთის რაიონს, იქ სადაც დადგენილი იყო *R. solanacearum* - ის გავრცელება. ფაგების გამოყოფა მოვახდინეთ წყლის ნიმუშებიდან, რომლებიც მოგროვებული იყო ქობულეთის მდინარეებიდან (დეხვა; აჭყვა; კინტრიშის ხეობის დელე), შავი ზღვიდან, ახალციხის ხეობის მდინარიდან და ბორჯომის ხეობის მდინარე მუჯახელადად. ნიმუშების აღება ხდებოდა წლის სხვადასხვა, ძირითადად თბილ პერიოდში.

R. solanacearum-ის სპეციფიკური ბაქტერიოფაგების გამოსავლენად გამოყენებული იყო ფაგების გამოყოფის სტანდარტული გამდიდრების მეთოდი, სადაც მასპინძელ ბაქტერიადაც ჩათესილი იყო საქართველოში მოგროვებული მასალიდან გამოყოფილი *R. solanacearum*-ის 32 შტამი. გამდიდრებული ნარევის მომზადების მიზნით მოვახდინეთ მათი დაჯუფება და ჩათესვა შემდეგნაირად: ახალციხის ხეობის მდინარის ნიმუშში იზოლატები ჩავთესეთ ორ ჯგუფად: I - KhT88, AcP62, KPe19, AcP57, KoT65, KhP33, KoT50, Ko48; II - AcP3, AcP5, AcP58, KhP9, KhP8, KoP18, AkhP80. ქობულეთის ზღვის წყალში სამ ჯგუფად -I -KoT46, KoEg31, NiP43, AkhP38, AcP55, KoT47, KoP63, AcP2, OzT67, II - KhT88, AcP62, KPe19, AcP57, KoT65, KhP33, KoT50, Ko48; III - KeT93, KoP97, KePe99, AcP61, NCBPP3725, NCBPP 3996, NCBPP4214, NCBPP325, NCBPP4211, KhPe91; ქობულეთის მდინარე აჭყვის წყლიდან აღებულ ნიმუშში სამ ჯგუფად I - AcP59, KoP18, KhT88, AkhP80, AKhP42, NiP43, KhP33, KoT50, Ko48; II - KoT46, AkhP38, AcP55, KoT47, OzT67, KeT92, KheT96, KePe94, AkhP100, AcP98, KhT89; III - KeT93, KoP97, KePe99, AcP61, NCBPP3725, NCBPP 3996, NCBPP4214, NCBPP325, NCBPP4211, KhPe91; ბორჯომის ხეობის მდინარე მუჯახელადად აღებულ ნიმუშში ორ ჯგუფად: I -AcP3, AcP5, AcP58, KhP9, KhP8, KoP18, AkhP80, II - KhT88, AcP62, KPe19, AcP57, KoT65, KhP33, KoT50, Ko48; ქობულეთის მდინარე დეხვას წყლის ნიმუშში სამ ჯგუფად: I -KhT88, AcP62, KPe19, AcP57, KoT65, KhP33, KoT50, Ko48; II - KoT46, AkhP38, AcP55, KoT47, OzT67,

KeT92, KheT96, KePe94, AkhP100, AcP98, KhT89; III - KeT93, KoP97, KePe99, AcP61, NCBPP3725, NCBPP 3996, NCBPP4214, NCBPP325, NCBPP4211, KhPe91.

უნდა აღინიშნოს, რომ ზამთრის თვეებში და ადრე გაზაფხულზე ფიტოპათოგენებისადმი სპეციფიური ფაგები გარემოში ფაქტობრივად არ ვლინდებიან, რაც პირველ რიგში დაკავშირებული უნდა იყოს მათ მიმართ მგრძნობიარე ბაქტერიების მინიმალურ რიცხოვნობასთან და ასევე კლიმატურ ფაქტორებთან. ტემპერატურისა და სინესტის მატებასთან და შესაბამისად დაავადების გავრცელების ალბათობის ზრდასთან ერთად, ფაგების გამოყოფის სიხშირე მატულობდა და პიკს ზაფხულის ბოლოს, შემოდგომის დასაწყისში აღწევდა. სტანდარტულად გამდიდრებული ნარევების ინკუბაციისას, მიღებული ლიზატების ცენტრიფუგირებისა და მემბრანული ფილტრაციის შემდეგ, ვახდენდით ბაქტერიოფაგების შემცველობის გამოვლენას სპოტ - ტესტის მეშვეობით (იხ. ზემოთ). კვლევებმა გვიჩვენა რომ, *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატები ავლენდნენ განსხვავებულ მგრძნობელობას ფაგების მიმართ. შტამების 30% რეზისტენტული იყო ჩვენს მიერ გამოყოფილი ფაგური ნარევების მიმართ. *Ralstonia solanacearum* -ის იზოლატების 50% ავლენდა საშუალო ხარისხის ფაგომგრძნობელობას, ხოლო 20%-ს ახასიათებდა მაღალი მგრძნობელობა. *R. solanacearum*-ის ათამდე იზოლატი ხასიათდებოდა მაღალი მგრძნობელობით ფაგური ნარევების უმრავლესობის მიმართ, ამ მხრივ განსაკუთრებით აღსანიშნავია იზოლატები: *R. solanacearum* KoP63, KoPe19, AcP5. ზოგიერთი იზოლატი (*R. solanacearum* KhP33, KoP97, AkhP80, AKhP42, Ko48, OzT67 და AcP55) კი მხოლოდ ცალკეული ერთეული ფაგოლიზატის მიმართ იყო მგრძნობიარე. ფაგური ნარევების ნაწილი (F 3-3; F3-2; F 2-1; F2-3; F3-1; FD1; FA1) ხასიათდებოდა ფართო ლიზისურ სპექტრით, ხოლო ზოგიერთი (F4-1; F6-1; F6-2; F17; FN11; FN5; FD3) ვიწრო ლიზისური სპექტრით (ცხრილი 18).

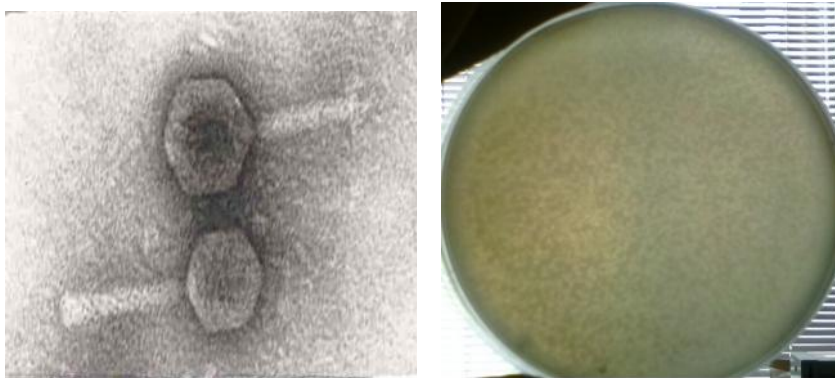
ფაგური ნარეგების ლიზისური სპექტრი *R. solanacearum*-ის ქართული იზოლატების მიმართ.

#	იზოლატები	რასა /ბიოვარი	ფაგური ნარეგები																						
			F3-3	F3-2	F4-1	F6-1	F2-1	F2-3	F3-1	F2-2	F6-2	F6-1	F17	F6-3	FN11	FN5	FD1	FD3	FA1	2mix	F2B	F2S	3Mix	F3B	F3S
1	AcP3	R3B2	scl	sc l	R	R	R	scl	scl	scl	scl	R	R	R	R	R	scl	R	scl	scl	R	R	scl	R	R
2	AcP2	R3B2	cl	scl	R	R	cl	cl	cl	R	R	R	R	cl	R	R	scl	R	scl	scl	R	R	scl	R	R
3	AcP5	R3B2	scl	scl	R	R	cl	cl	cl	cl	R	R	R	scl	R	R	scl	R		scl	scl	scl	scl	scl	scl
4	AcP58	R1B3	scl	scl	R	R	scl	scl	scl	R	R	R	R	scl	R	R	scl	R	scl	scl	R	R	scl	R	R
5	AkhP42	R1B3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	scl	scl	R	R	R	R	R	R	R
6	KoEg31	R3B2	cl	scl	R	R	scl	scl	scl	scl	scl	R	R	R	R	R	R	R	R	scl	R	R	R	R	R
7	KoT48	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	scl	R	R	scl	R	R
8	KoP18	R3B2	R	cl	cl	R	scl	cl	R	R	R	R	R	cl	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9	KhP33	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	scl	R	R	R	R	R	R	R	R
10	AcP57	R3B2	cl	R	R	R	cl	cl	cl	cl	R	R	R	R	R	R	scl	R	scl	scl	R	R	scl	R	R
11	KoT65	R1B3	cl	R	R	R	cl	cl	cl	cl	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
12	KoPe19	R3B2	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	cl	R	R	R	scl	R	scl	scl	R	scl	scl	R	R	scl	R	R
13	Akhp80	R1B3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	cl	R	scl	R	R	R	R	R	R
14	KoP63	R3B2	scl	scl	scl	scl	scl	scl	scl	scl	scl	scl	R	scl	scl	scl	scl	R	scl	scl	R	R	scl	R	R
15	KoP97	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	scl	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
16	KePe94	R3B2	scl	scl	scl	scl	scl	R	scl	scl	scl	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
17	AcP55	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	scl	R	R	R	R	R	R
18	KoT65	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	scl	R	R	R	R	R	R	R	R
19	KhP8	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
20	KhP9	R1B3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
21	NiP43	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

22	KoT47	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
23	OzT67	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
24	KoT46	R1B3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
25	KoT50	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
26	AcP62	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
27	AcP59	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
28	AkhP38	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
29	KhT88	R3B	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
30	AcP98	R3B2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
31	NCPPB4214	B3/ND	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
32	NCPPB3725	BDB	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

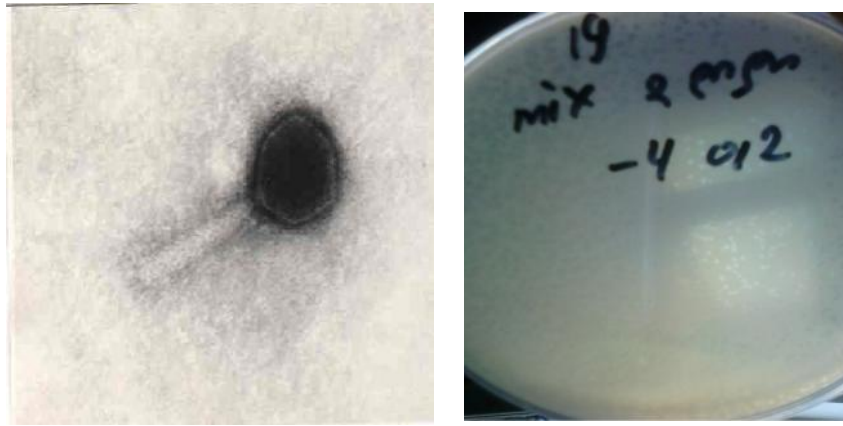
R - რეზისტენტული ; cl —სრული ლიზისი; scl - საშუალო

კლონირების მიზნით მსგავსი ფაგები გავაერთიანეთ ორ ჯგუფად: 2Mix, 3Mix. ფილტრატების მრავალჯერადი პასაჟის შედეგად საბოლოოდ მივიღეთ ოთხი კლონი F2B, F2S, F3B, F3S. მათი პატრონი შტამი იყო *R.solanacearum* -ის KoPe19, რომელიც გამოყოფილი იყო ქობულეთში დაავადებული წიწაკიდან, და მიეკუთვნა რასა 3 და ბიოვარ 2-ს. ფაგების ნეგატიური კოლონიების შესწავლამ გვიჩვენა რომ ფაგური კლონი - F3B ხასიათდებოდა 2-3მმ ზომის, მრგვალი, მღვრიე კოლონიებით, მცირე ნათელი ცენტრით. ელექტრონული მიკროსკოპით ჩატარებული კვლევის მონაცემებით, გამოვლინდა Moviridae-ს მორფოლოგიის მქონე ფაგების ნარევი (სურათი 31). ერთი დიდი ზომის ფაგი, რომლის თავის დიამეტრი შეადგენს - $91\pm 1,5$ ნმ, კუდის ზომებია - $95,5\pm 1,5 \times 26\pm 1$ ნმ, აქვს კარგად გამოხატული ფიბრილები. მეორე ფაგი ხასიათდებოდა პატარა თავით (დიამეტრი 78 ± 1 ნმ, კუდის ზომები - $126\pm 1 \times 22\pm 1$ ნმ $\pm 21,745$ ნმ).



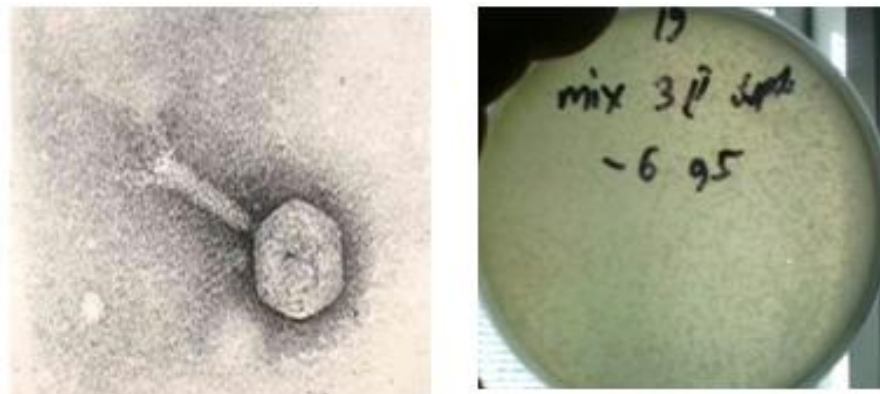
სურათი 31.

F2B ბაქტერიოფაგის ნეგატიური კოლონიები 2-3მმ ზომისაა, მღვრიე ნათელი ცენტრით, ელექტრონული მიკროსკოპის მონაცემებით, ასევე მიეკუთვნება Myoviridae-ს ოჯახს, ვირიონის ზომებია: თავის დიამეტრი $78,3\pm 1,25$ ნმ-ია, კუდი - $130\pm 1,5 \times 21,7\pm 1,25$ ნმ (სურათი 32).



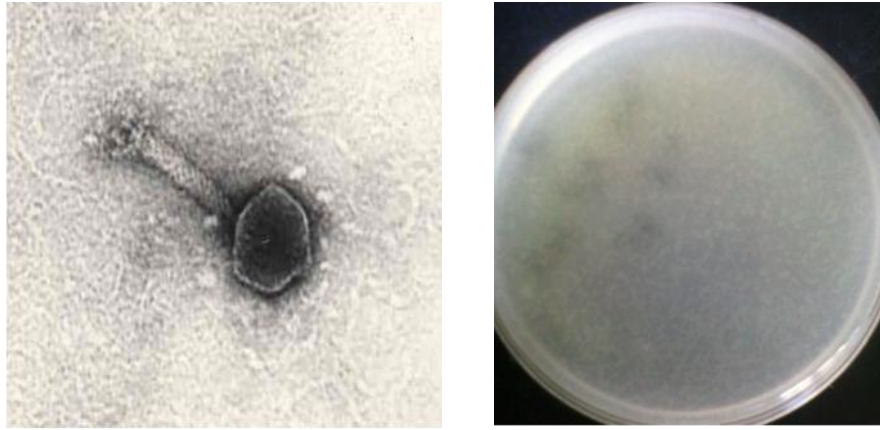
სურათი 32.

F3S ბაქტერიოფაგს ახასიათებდა მცირე ზომის ($D=1\text{მმ}$) ოდნავ მღვრიე კოლონიები. ელექტრონული მიკროსკოპის მონაცემებით, მიეკუთვნება Myoviridae-ს ოჯახს, თავის დიამეტრია $86,9\pm 1,2\text{ნმ}$, კუდის ზომები - $95,6\pm 1,5 \times 34,8\pm 1,0\text{ნმ}$. აქვს ფიბრილები (სურათი 33).



სურათი 33.

F2S ბაქტერიოფაგს - ასევე ახასიათებდა 1მმ დიამეტრის მრგვალი, ოდნავ მღვრიე კოლონიები. ელექტრონული მიკროსკოპის მონაცემებით, ასევე მიეკუთვნება Myoviridae-ს ოჯახს, თავის დიამეტრი $-65,6\pm 1,4\text{ნმ}$ -ია, კუდის ზომები - $87,0\pm 1,4 \times 21,7\pm 1,2\text{ნმ}$, ახასიათებს ფიბრილები (სურათი 34).



სურათი 34.

კვლევებმა გვიჩვენა რომ *R. solanacearum*-ის შტამები გამოირჩევიან ძალიან მაღალი მრავალფეროვნებით ფაგებისადმი მგრძობელობის თვალსაზრისით. ჩვენს მიერ გამორჩეული იქნა განსაკუთრებით მგრძობიარე ფაგების ჯგუფი, რომლებზეც გაგრძელდება შემდგომი კვლევები.

3.8. *R. solanacearum* -ის მიმართ აჭარის ზღვისპირეთის ფლორის მერქნიანი სახეობების ანტიბაქტერიული აქტივობის შესწავლა

R. solanacearum - ის მიმართ მცენარეთა ექსტრაქტების ანტიბაქტერიული აქტივობის შესასწავლად განვახორციელეთ სკრინინგი. ამ მიზნით შერჩეული იქნა დასავლეთ საქართველოს აჭარის ტენიანი სუბტროპიკული კლიმატის პირობებში მოზარდი ადგილობრივი და ეგზოტური მერქნიანი სახეობებიდან ფოთოლმცვენი და მარადმწვანე მერქნიანი მცენარეების 60 სახეობა, კერძოდ, *Bignonia*, *Viburnum*, *Rhododendron*, *Manihot*, *Corylopsis*, *Hamamelis*, *Liquidambar*, *Loropetalum*, *Distylium*, *Parrotiopsis*, *Parrotia*, *Fortunaria*, *Illicium*, *Iuglans*, *Cinnamomum*, *Machilus*, *Neolitzea*, *Magnolia*, *Cocculus*, *Dorifora*, *Eucalyptus*, *Camellia*, *Myrtus*, *Pittosporum*, *Laurocerasus*, *Buxus* გვარები. ეს სახეობები ძირითადად წარმოადგენენ ბათუმის ბოტანიკური ბაღის მდიდარ მერქნიან მცენარეთა კოლექციის ნაწილს, ბევრი მათგანი კი უკვე ფართოდ და წარმატებით არის დანერგილი დასავლეთ საქართველოს აჭარის ზღვისპირეთის დეკორატიულ მებაღეობაში, ბაღების, სკვერების და სხვადასხვა მწვანე ობიექტის

განაშენიანებაში. აქვე უნდა აღინიშნოს, რომ შესწავლილი სახეობებიდან 9 წარმოადგენს მსოფლიო წითელის ნუსხის (IUCN) მცენარეებს: *Abies nordmanniana*, *Corylopsis pauciflora*, *Ginkgo biloba*, *Iuglans regia*, *Liquidambar styraciflua*, *Magnolia delavayi*, *Magnolia officinalis*, *Taxus baccata*.

აღნიშნული კვლევა ხორციელდებოდა ბიომრავალფეროვნების მიმართულების კოლეგებთან ერთად, ვინაიდან წარმოდგენილი მცენარეული ობიექტების ანტიმიკრობული აქტივობის შესახებ კვლევები წლების განმავლობაში მიმდინარეობდა, რაც ასახულია არაერთ შრომაში (მეტრეველი...2003, 2006, 2008, 2009, 2012: ; Чиджаваძე 1980:). აგრეთვე ცნობილია, *in vivo* და *in vitro* პირობებში, ამა თუ იმ მცენარის ექსტრაქტის მაღალი მგრძობელობა *R. solanacearum*-ის -ის მიმართ, (Lemos...2005; Lopez...2005; Larkin...2007; Walters... 2009).

მონაცემთა დაზუსტების და გამყარების მიზნით ექსპერიმენტები გაგრძელდა ბაქტერიოციდული მიმართულებით. კვლევაში გამოყენებული იქნა 2012-2015 წლებში შეგროვილი *R. solanacearum*-ის ქართული შტამები, რომლებიც იზოლირებული იყო სხვადასხვა მასპინძელი მცენარიდან (კარტოფილი, პომიდორი, წიწაკა).

ანტიბაქტერიული მოქმედების შესასწავლად *Ralstonia solanacearum*-ის შემთხვევაში საანალიზო მასალა აღებული იქნა გაზაფხულის, ზაფხულისა და შემოდგომის პერიოდებში. მცენარის თხევად ექსტრაქტს ვლებულობდით ახლად დაკრეფილი გამოსაკვლევი მცენარის ფოთლებიდან (100გრ), რომელთაც ვასუფთავებდით დისტილირებული და სტერილური წყლით, კარგად ვაქუცმაცებდით სტერილური მაკრატილით და ვსრესდით მექანიკურ როდინში, 100მლ სტერილური წყლის დამატებით. შემდგომ ვახდენდით ცენტრიფუგირებას (5000 ბრუნი/წთ) 10 წთ-ის განმავლობაში და სუპერნატანტს ვიყენებდით ჩვენს კვლევაში.

ცდების შედეგად გამოვლინდა რომ, მცენარეთა ექსტრაქტების ნაწილმა გავლენა ვერ მოახდინა ბაქტერია *R. solanacearum* - ის ზრდაზე, ხოლო ნაწილმა დადებითი შედეგი მოგვცა. აღსანიშნავია, რომ დადებითი შედეგი მოგვცა აგვისტოს თვეში ჩატარებულმა ცდებმა. ფოთლების ექსტრაქტების მოქმედებით მიღებული ბაქტერიული კულტურის ზრდის დათრგუნვის ზონის დიამეტრის, ლიზისური

უბნების მიხედვით მივიღეთ ძლიერი და საშუალო ანტიბაქტერიული მოქმედების სახეობები (ცხრილი 19). 1) ძლიერი ანტიბაქტერიული აქტივობის სახეობები: *Parrotia persica* (DC.)C. A. Mey, *Hamamelis japonica* Sieb. et Zucc., *Hamamelis virginiana* L., *Hamamelis mollis* Oliv., *Myrtus communis*, *Liquidambar styraciflua* L., *Corylopsis pauciflora* Sieb. et Zucc., *Buxus colchica* Pojark.; მათ შორის ყველაზე მაღალი მგრძობელობა გამოავლინა ფოთოლმცვენი ბუჩქის *Corylopsis pauciflora* - ს ნედლი ფოთლების ექსტრაქტმა. ბაქტერიული კულტურის ინჰიბირებული ზონის დიამეტრი $\geq 30 \pm 2$ -ს აღწევდა. ეს სახეობა მიეკუთვნება Hamamelidaceae - ის ოჯახს და გვხვდება იაპონიაში, ჩინეთში და ტაივანში. 2) საშუალო ანტიბაქტერიული აქტივობის სახეობები: *Abies nordmanniana* (Stev.)Spach., *Iuglans regia* L., *Taxus baccata* L., *Parrotiopsis jaquemontiana* (Decne.) Rehd., *Corylopsis sinensis*Hemsl. , *Pittosporum floribundum* Wight. et Arn., *Liquidambar formosana*Hance., *Corylopsis spicata*Sieb. et Zucc., *Eucalyptus cinerea* F. Muell. et Benth., *Laurocerasus officinalis* M. Roem., *Ginkgo biloba* L.

ცხრილი 19.

აჭარის ზღვისპირეთის ფლორის მერქიანი სახეობების ანტიბაქტერიული აქტივობის სკრინინგის შედეგები

№	სახეობა	სასიცოცხლო ფორმა	ფიტოპათოგენური ბაქტერიის <i>R. solanacearum</i> -ის ზრდის დათრგუნვის ზონის დიამეტრი (მმ)	ანტიმიკრობული აქტივობის ხარისხი
1	<i>Abies nordmanniana</i>	მარადმწვანე ხე	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
2	<i>Buxus colchica</i>	მარადმწვანე ბუჩქი, ხე	$\geq 20 \pm 2$	ძლიერი
3	<i>Ginkgo biloba</i> L	ფოთოლმცვენი ხე	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
4	<i>Corylopsis pauciflora</i>	ფოთოლმცვენი ბუჩქი	$\geq 30 \pm 2$	ძლიერი
5	<i>Corylopsis sinensis</i>	ფოთოლმცვენი ბუჩქი	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
6	<i>Corylopsis spicata</i>	ფოთოლმცვენი ბუჩქი	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
7	<i>Eucalyptus cinerea</i>	ფოთოლმცვენი ხე	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
8	<i>Hamamelis japonica</i>	ფოთოლმცვენი	$\geq 25 \pm 2$	ძლიერი

		ბუჩქი		
9	<i>Hamamelis mollis</i>	ფოთოლმცვენი ბუჩქი	$\geq 25 \pm 2$	ძლიერი
10	<i>Hamamelis virginiana</i>	ფოთოლმცვენი ბუჩქი	$\geq 25 \pm 2$	ძლიერი
11	<i>Juglans regia</i>	ფოთოლმცვენი ხე	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
12	<i>Laurocerasus officinalis</i>	მარადმწვანე ბუჩქი,	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
13	<i>Liquidambar formosana</i>	ფოთოლმცვენი ხე	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
14	<i>Liquidambar styraciflua</i>	ფოთოლმცვენი ხე	$\geq 25 \pm 2$	ძლიერი
15	<i>Myrtus communis</i>	მარადმწვანე ბუჩქი	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
16	<i>Parrotiapersica</i>	ფოთოლმცვენი ხე	$\geq 25 \pm 2$	ძლიერი
17	<i>Parrotiopsis jaquemontiana</i>	ფოთოლმცვენი ბუჩქი	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
18	<i>Pittosporum floribundum</i>	მარადმწვანე ხე	$\geq 15 \pm 2$	საშუალო
19	<i>Taxusbaccata</i>	მარადმწვანე ხე	$\geq 18 \pm 2$	საშუალო

ამრიგად *In vitro* პირობებში, ჩვენს მიერ ჩატარებული მცენარეთა ანტიბაქტერიული აქტივობის სკრინინგის შედეგების საფუძველზე, შეგვიძლია ვთქვათ რომ, შესაძლებელია წარმატებით გამოვიყენოთ აღნიშნული მცენარეთა ექსტრაქტი, როგორც პოტენციური ბრძოლის საშუალება, ბაქტერია *R. solanacearum* - ით გამოწვეული ბაქტერიოზების წინააღმდეგ. აღნიშნული კვლევა სიახლეა და მოითხოვს შემდგომ ღრმა კვლევის გაგრძელებას, რათა შესწავლილ იქნას ექსტრაქტის თუ რომელი შემადგენელი კომპონენტი თრგუნავს კონკრეტულად ბაქტერიის ზრდას, რომელიც სამომავლოდ, შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას ბიოპრეპარატის შექმნაში.

დასკვნები:

1. ჩვენს მიერ 2011-2015 წწ. განხორციელებული კვლევებით, პირველად გამოვლინდა მცენარეთა ბაქტერიული ლპობის შემთხვევები საქართველოში და იდენტიფიცირებული იქნა დაავადების გამომწვევი - ფიტოპათოგენური ბაქტერია *Ralstonia solanacearum*. საქართველოს სოფლის მეურნეობის მინისტრის N2-13 2006 წლის 31 იანვრის ბრძანების მიხედვით *R. solanacearum* შესული იყო საქართველოს მცენარეთა არარეგისტრირებულ საკარანტინო ობიექტების ნუსხაში. ჩვენი კვლევების შედეგების გათვალისწინებით მთავრობის 2014 წლის 14 ივლისის დადგენილება # 446 - ის (16.07.2014) საფუძველზე, *R. solanacearum* მიეკუთვნა საქართველოში შეზღუდულად გავრცელებულ, საკარანტინო კატეგორიის პათოგენებს.
2. პირველად, გამოვლენილ იქნა *R. solanacearum* - ის მასპინძელი მცენარეები საქართველოში: კარტოფილი, პომიდორი, წიწაკა, ბადრიჯანი და დეკორატიული მცენარეები: *Streilizia spp.*, და *Pelargonium zonale*. დაავადების უმეტესობა გამოვლინდა კარტოფილის მცენარეზე - 57,7%, ხოლო პომიდორზე ბაქტერიული ჭკნობის ინტენსივობა შეადგენდა - 54,8%-ს.
3. პირველად, დავადგინეთ ბაქტერია *R. solanacearum*- ის გავრცელების გეოგრაფიული არეალი საქართველოში: სამცხე -ჯავახეთი, ზემო აჭარა, კოლხეთის დაბლობი და შიდა ქართლი.
4. გამოვავლინეთ მცენარეთა ბაქტერიული ჭკნობის გავრცელების ინტენსივობა. *R. solanacearum* - ით გამოწვეული მცენარეთა ბაქტერიოზები ყველაზე მაღალი ინტენსივობით გვხვდებოდა სამცხე-ჯავახეთში და შეადგენდა 63,6%, ყველაზე ნაკლებად დაფიქსირდა შიდა ქართლში - 23%.
5. კარტოფილის მურა სიდამპლის შემთხვევების ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი იყო სამცხე -ჯავახეთში და ქობულეთში (63,3% და 62,5 %). პომიდორის ბაქტერიული ჭკნობა ყველაზე მაღალი სიხშირით გამოვლინდა დასავლეთ საქართველოში, კერძოდ ჩხურუწყუსა და ქუთაისში, როგორც ღია ასევე დახურული გრუნტის პირობებში არსებულ ნათესებში და შეადგინა 63,15%, ზემო აჭარაში (ხულოში და ქედის რ/ნ -ში) - 50%, ხოლო ქობულეთის რ/ნ-ში კი, 48,48%.

6. პირველად, განვსაზღვრეთ საქართველოში გავრცელებული *R. solanacearum* - ის რასა და ბიოვარი. ძირითადად გვხვდება იზოლატების ორი განსხვავებული ჯგუფი. ერთი მათგანი ეკუთვნის რასა 3 ბიოვარ 2 - ს, ხოლო მეორე რასა1 ბიოვარ 3 - ს. დადგენილი იქნა, რომ სამცხე-ჯავახეთში მაღალი ინტენსივობით გავრცელებულია *R. solanacearum* -ის პანდემური რასა 3 ბიოვარი 2, რომელიც კარგად ადაპტირებული აღმოჩნდა მაღალმთიანი რეგიონის კლიმატურ პირობებთან.
7. პირველად ჩატარდა *R. solanacearum* -ის ქართული პოპულაციის ფილოგენეტიკური ანალიზი და გამოვლინდა ფილოგენეტიკური ჯგუფები: ფილოტიპ II, რომელიც აერთიანებს რასა 3 ბიოვარ 2-ის იზოლატებს, და ფილოტიპი I, რომელშიც შედის რასა 1 ბიოვარ 3-ის იზოლატები.
8. დადგინდა, რომ ფილოტიპ II - ის შემადგენლობაში შემავალი ქართული შტამები ძალიან ახლოს დგას ევროპული წარმოშობის შტამებთან - NCPPB 3857 UK და CFBP 3858 და სავარაუდოდ, მათაც იგივე, ევროპული, წარმოშობა აქვთ. ფილოტიპის I მქონე ქართული იზოლატი *R. solanacearum* - KoT47 ძალიან ახლოს მდგომი აღმოჩნდა აზიური წარმოშობის შტამებთან, მათ შორის ჯანჯაფილიდან მიღებული შტამთან, და შეგვიძლია დავუშვათ, რომ ფილოტიპი I -ის ქართულ იზოლატებსაც აზიური წარმოშობა აქვთ. ამდენად, საქართველოში *R. solanacearum* -ის ორი სხვადასხვა წარმოშობის პოპულაციის არსებობის ფაქტი მიგვანიშნებს ქვეყანაში პათოგენის შემოჭრის ორ სხვადასხვა გზაზე.
9. შესწავლილ იქნა *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატების მიმართ სპეციფიკური ფაგების, როგორც ინდიკატორების, გავრცელება გარემოში. სპეციფიკური ფაგები გამოყოფილ იქნა 29 გარემოს სინჯების 7, 83 %-დან, უმეტესობა კი იმ ადგილებიდან, სადაც დაავადება გავრცელებულია მაღალი ინტენსივობით (ქობულეთის მდინარეები: აჭყვა, დეხვა, კინტრიში, შავი ზღვა). გამოყოფილი ფაგების ნაწილი ხასიათდებოდა ფართო ლიზისურ სპექტრით, ხოლო ზოგიერთი ფაგი - ვიწრო სპექტრით.
10. გამოვავლინეთ *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატების მგრძობელობა ფაგების მიმართ. დავადგინეთ რომ, იზოლატების 30% რეზისტენტულია

ფაგების მიმართ, 20% - ს ახასიათებდა მაღალი ფაგომგრძობელობა, ხოლო 50% ხასიათდება საშუალო ფაგომგრძობელობით. მათ შორის მოვახდინეთ განსაკუთრებით მგრძობიარე ფაგების ჯგუფის გამოყოფა, რომლებზეც გაგრძელდება შემდგომი კვლევები.

11. შვეისწავლეთ *R. solanacearum* - ის ქართული იზოლატების მგრძობელობა დასავლეთ საქართველოს აჭარაში მოზარდი ადგილობრივი და ეგზოტიკური (როგორც ფოთოლმცვენი, ასევე მარადმწვანე) მერქიანი სახეობების ექსტრაქტების მიმართ. დადგინდა საკვლევი მცენარეების ექსტრაქტების განსხვავებული, ანტიბაქტერიული მოქმედება. ყველაზე მაღალი აქტივობა გამოავლინა Hamamelidaceae - ის ოჯახში შემავალი ფოთოლმცვენი ბუჩქის *Corylopsis pauciflora* - ს ნედლი ფოთლების ექსტრაქტმა, რომელიც მომავალში შესაძლებელია წარმატებით იქნას გამოყენებული, როგორც ბრძოლის ეფექტური, ბიოლოგიური საშუალება მცენარეთა ბაქტერიოზების საწინააღმდეგოდ.

ციტირებული ლიტერატურა

1. **ბადრიშვილი... 1980**, ბადრიშვილი გ., მემცენარეობა, ტ. 5, გვ. 420-421, თბილისი, 1980
2. ბათუმის ბოტანიკური ბაღის ხეები და ბუჩქები. თბილისი, 2012, 184 გვ.
3. **დავითაშვილი... 1999**: დავითაშვილი მ., თედიაშვილი მ. ბაქტერიოფაგები, როგორც მცენარეთა ბაქტერიოფებთან ბრძოლის საშუალება: გამოცდილება და პერსპექტივები. „მახარობელი“, თელავის ი. გოგებაშვილის სახ. უნივერსიტეტის შრომათა კრებული, 1999, ტ. 1. გვ. 82-95.
4. **ვერულიძე... 2009**: გულნარა ვერულიძე ციალა ბოლქვაძე; შოთა ლამპარაძე; კარტოფილის წარმოების ტექნოლოგია; შოთა რუსთაველის სახელმწიფო უნივერსიტეტი; ბათუმი 2009.
5. **თედიაშვილი... 2001**: თედიაშვილი მ., დავითაშვილი მ., ლაშხი ნ., ხუხუნაიშვილი თ., კობერიძე თ., გიორხელიძე გ., ცერცვაძე თ., ჭანიშვილი ნ., ფიტოპათოგენური ბაქტერიების მიმართ სპეციფიკური ზოგიერთი ბაქტერიოფაგის ბიოლოგიური თვისებების შესწავლა. საქ. მეცნ. აკადემიის მაცნე, 2001, ტ. 27, #1-3. გვ. 45-51
6. **კვეზერელი, 2010**: კვეზერელი ბ. ბაინდურაშვილი კ. „საკარანტინო და სხვა საშიში მავნე ორგანიზმების შემოჭრისა და გავრცელებისაგან საქართველოს ტერიტორიის ფიტოსანიტარიული დაცვის წესები“, 2010. <https://matsne.gov.ge>
7. **მეტრეველი, 2008**: მეტრეველი მ. „*Hamamelis virginiana*-ს და *Liquidambar styraciflua* -ს სამკურნალო თვისებები და მათი გამოყენების პერსპექტივები „რეგიონული ეკონომიკა“, სამეცნიერო - პრაქტიკული ჟურნალი, №2, ბათუმი, 2008, გვ. 36-37.
8. **მეტრეველი, 2009**: მეტრეველი მ. „ბათუმის ბოტანიკურ ბაღში ინტროდუცირებული ჰამამელისისებრთა ოჯახის სახეობების ადაპტაციის თავისებურებები“. სადოქტორო დისერტაცია - თავი 5: „ჰამამელისისებრთა ოჯახის სახეობების ფიტონციდური აქტივობა“. ბათუმი, 2009, გვ. 90-100.
9. **მეტრეველი, 2012**: მეტრეველი მ., ბათუმის ბოტანიკურ ბაღში ინტროდუცირებული ჰამამელისისებრთა (*Hamamelidaceae* Lindl.) ოჯახის

სახეობების ეკო ფიზიოლოგიური თავისებურებები“. ბათუმის ბოტანიკური ბაღის მოამბე, ტომი 34, თბილისი, 2012, გვ.121 – 131.

10. **ყანჩაველი, 1977:** ყანჩაველი ა., ბაღდავაძე გ., გეგენავა ი., ფერაძე კ., ზუაჩიძე ნ., ჭაია მცენარეთა დაცვა. გამომცემლობა „განათლება“ თბილისი - 1977. გვ.346-350.
11. **Габрилович, 1973:** Габрилович И. М. Основы бактериофагии. Минск, «Высшая школа», 1973.
12. **Израельский, 1968:** . . (.). . . ,1968.
13. **Израэль... 1985:** Израэль Ю.А., Цыбань А.В. (1985). “Экология и проблемы комплексного глобального мониторинга Мирового океана”. В кн.: Комплексный глобальный мониторинг Мирового океана. Труды первого международного симпозиума. Ленинград. Гидрометеоиздат. Том. №1. 19-49стр.
14. **Лебедева, 1939:** Лебедева О. П. Результаты полевых исследований застояния бактериофагов против *B. Malvacearum* E. Smith у борьбы с гоммозом. Минливисть микробив и бактериофагия. Изд-ствт АН УССР, Киев, 1939, с. 423-43.
15. **Новикова, 1952:** Новикова Н.С. Явища бактериофагии при бактериальных эпифитотиях деяких сельскоогосподарских рослиню Микробиол. Жур. 66 19526 т. 14, №3, с. 46-57.
16. **Новикова, 1938** Новикова Н.С. Попова О. С. Полеви дослиди застоування бактериофага у боротьби з бактериальною рябухою *P. tabaci* . Микробиол. Жур, 1938, т. 5 №3, с. 75-82.
17. **Ромашка, 1988:** Ромашка А. М. Биологические, физико-химические свойства и практическое использование бактериофагов *Pseudomonas Syringae*. Канд. Дисерт. Минск, 1988.
18. **Токарчук... 1985:** Токарчук Л. В., Бойко А. Л. Самойленко В. И. Характеристика физико-химических свойств фага 512 и его структурных белков. Тез. Докл. Фитонциды. Бактериальные болезни растений. Ужгород, 1885, Киев, Наук. Думка, 1985, т. 2. Ст. 45.

19. , 1980: . . « , » , 1980, - « », 1980, .115-121.
20. **Anonymous, 2000:** Anonymous Council Directive 2000/29/EC of 8 May 2000 on protective measures against the introduction into the Community of organisms harmful to plants or plant products and against their spread within the Community. Off J EurCommunities2000;L169:1-112
21. **Adams, 1959:** Adams, M. H. 1959. *Bacteriophages*. Interscience Publishers, Inc., New York, *Monograph authored by Mark H. Adams published in 1959*
22. **Aboul-Enein... 2011:** Aboul-Enein, A.M., A.M. Al-Abd, E. Shalaby, F. Abul-Ela, A.A. Nasr-Allah, A.M. Mahmoud and H.A. El-Shemy, 2011. *Eichhornia crassipes*(Mart) solms: From water parasite to potential medicinal remedy. Plant Signaling Behav., 6: 834-836.
23. **Anonymous, 1998:** Anonymous, 1998. Council Directive 98/57/EC of 20 July 1998 on the control of *Ralstonia solanacearum*. Annex II-test scheme for the diagnosis, detection and identification of *Ralstonia solanacearum*. Official Journal of the European Communities, L235:8-39.
24. **Anonymous, 2006:** Anonymous, 2006. Commission Directive 2006/63/EC of 14 July 2006: amending Annexes II to VII to Council Directive 98/57/EC on the control of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Official Journal of the European Communities, L206:36-106.
25. **Araud-Razou... 1998:** Araud-Razou I, Vasse J, Montrozier H, Etchebar C, Trigalet A. Detection and visualization of the major acidic exopolysaccharide of *Ralstonia solanacearum* and its role in tomato root infection and vascular colonization. Eur J Plant Pathol 1998;104(8):795-809
26. **Урбах, 1975:** Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М. Медицина,. 1975, с. 153
27. **Agrios, 2005:** Agrios GN (2005) Plant Pathology, Fifth Edition edn. San Diego, California: Elsevier Academic Press

28. **Ayman... 2014:** Ayman Al-Mariri, and Mazen Safi, In Vitro Antibacterial Activity of Several Plant Extracts and Oils against Some Gram-Negative Bacteria Iran J Med Sci. 2014 Jan; 39(1): 36–43
29. **Abo-Elyousr... 2009:** Abo-Elyousr K. A. M.; M. R. Asran; Antibacterial activity of certain plant extracts against bacterial wilt of tomato; Archives of Phytopathology and Plant Protection; June 2009; 42(6): 573–578
30. **Abo-Elyousr...2009:** Abo-Elyousr KAM, Hussein AM, Allam AD, Hassan MH (2009). Salicylic acid induces resistance on onion plants against *Stemphylium vesicarium*. Arch. Phytopathol. Plant Prot. 42(11):1042-1050.
31. **Ackermann... 1974:** Ackermann H.W., A. Eisenstark The present state of phage taxonomy Intervirology, 3 (4) (1974), pp. 201–219
32. **Ackermann ... 2001:** Ackermann H.W. Frequency of morphological phage descriptions in the year 2000 Arch. Virol., 146 (5) (2001), pp. 843–857.
33. **Buddenhagen... 1964:** Buddenhagen IW, Kelman A. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. Annu Rev Phytopathol, 1964; 2:203-230
34. **Buddenhagen... 1962:** Buddenhagen I, Sequeira L, Kelman A (1962) Designation of races of *Pseudomonas solanacearum*. Phytopathol 52:726.
35. **Belen... 2010:** Belen Alvarez, Elena G. Biosca, and Maria M. Lopez “On the life of *R. solanacearum* a destructive bacterial plant pathogen” Current Research, Tecnology and Topics in Applied Mikrobiology and Mikrobial Bioteshnology A. Mendez-Vilas (Ed.) FORMATEX 2010
36. **Bonas... 1996:** Bonas U, Ackerveken G (1996) Bacterial hrp and Avirulence Genes are Key Determinants in Plant-Pathogen Interactions. In Aerial Plant Surface Microbiology, Morris C, Nicot P, Nguyen-The C (eds), 4, pp 59-72.
37. **Bradbury... 1986:** Bradbury JF (1986) Guide to Plant Pathogenic Bacteria. CAB International, Wallingford (GB).
38. **Bergh... 1989:** Bergh O., Børsheim K. Y., Bratbak G., Heldal M. (1989). High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* 340 467–468 10.1038/340467a0

39. **Bradley... 1967:** Bradley D. E., Ultrastructure of bacteriophage and bacteriocins. Journal List Bacteriol Rev v.31(4); 31, 230-314.1967 Dec PMC408286
40. **Boucher... 1987:** Boucher CA, Van Gijsegem F, Barberis PA, Arlat M, Zischek C (1987) *Pseudomonas solanacearum* genes controlling both pathogenicity on tomato and hypersensitivity on tobacco are clustered. Journal of Bacteriology 169:5 626-563
41. **Brumbley... 1990:** Brumbley SM, Denny TP. Cloning of wild-type *Pseudomonas solanacearum* *phcA*, a gene that when mutated alters expression of multiple traits that contribute to virulence. J Bacteriol 1990;172:5677-5685.
42. **Boucher...2001:** Boucher C, Genin S, Arlat M. Current concepts of pathogenicity in plant pathogenic bacteria. Comptes Rendus de l' Academie des Sciences Serie III: Sciences de la Vie-Life Sciences 2001;324:915-922.
43. **Boucher ... 1985:** Boucher C, Barberis P, Trigalet A, Demery D. Transposon mutagenesis of *Pseudomonas solanacearum*: isolation of Tn5- induced avirulent mutants. J Gen Microbiol 1985;131:2449-2457
44. **Billing...190:** Billing E., J.E. Crosse and C.M. Garrett, 1960. Laboratory diagnosis of fire blight and bacterial blossom blight of pear. Plant Pathol., 9: 19-25.
45. **Boucher... 1992:** Boucher CA, Gough CL, Arlat M. Molecular genetics of pathogenicity determinants of *Pseudomonas solanacearum* with special emphasis on *hrp* genes. Annu Rev Phytopathol 1992; 30:443-461
46. **Burkholder, 1948:** Burkholder (October 1948). "Bacteria as Plant Pathogens". Annual Review of Microbiology. Cornell University. 2:389–412. doi:10.1146/annurev.mi. 02. 100148.002133. PMID 18104350.
47. **Baker... 1984:** Baker CJ, Neilson MJ, Sequeira L, Keegstra KG. Chemical characterization of the lipopolysaccharide of *Pseudomonas solanacearum*. Appl Environ Microbiol 1984;47:1096-1100
48. **Bogdanove... 1996:** Bogdanove AJ, Beer SV, Bonas U et al. Unified nomenclature for broadly conserved *hrp* genes of phytopathogenic bacteria. Mol Microbiol 1996;20:681-683.
49. **Champoiseau ... 2008:** Champoiseau, P.G. 2008. USDA NRI Project: *R. solanacearum* race 3 biovar 2: detection, exclusion and analysis of Select Agent Educational modules

50. **Cowan... 1999:** Cowan MM¹ Plant products as antimicrobial agents. Clin Microbiol Rev. 1999 Oct;12(4):564-82.
51. **Cook ... 1991:** Cook S., and Sequeira, L. 1991. The use of subtractive hybridization to obtain a DNA probe specific for *Pseudomonas solanacearum* Race 3. Molecular and General Genetics 227: 401-410.
52. **Cook... 1989:** Cook D, Barlow E, Sequeira L, 1989. Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum*: detection of restriction fragment length polymorphisms with DNA probes that specify virulence and the hypersensitive response. Molecular Plant-Microbe Interactions 2, 113–21
53. **Gleasner... 2015:** Cheryl Gleasner, Kim McMurry, Beverly Parson-Quintana, Illumina Training Manual, Version 4: January 2015, approved by Tracy Erkkila, 7-22
54. **CABI, 2011:** CABI. 2011. Crop Protection Compendium. <http://www.cabi.org/cpc/>
55. **Coons ... 1925:** Coons GH, Kotila JE. The transmissible lytic principle (bacteriophage) in relation to plant pathogens. Phytopathology. 1925;15:357–70
56. **Canard... 1994:** Canard Bruno; Sarfati, Simon (13 Oct 1994), Novel derivatives usable for the sequencing of nucleic acids, retrieved 2016-03-09
57. **Canard... 1994:** Canard Bruno; Sarfati, Robert S. (1994-10-11). "DNA polymerase fluorescent substrates with reversible 3'-tags". Gene 148 (1): 1–6. doi:10.1016/0378-1119(94)90226-7.1
58. **Cellier...2010:** Cellier G, Prior P, 2010. Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. Phytopathology, 100(11):1250-1261. <http://www.apsnet.org/phyto/>
59. **Clough... 1997:** Clough, S. J., Flavier, A. B., Schell, M. A. & Denny, T. P. (1997a). Differential expression of virulence genes and motility in *Ralstonia* (*Pseudomonas*) *solanacearum* during exponential growth. Appl Environ Microbiol 63, 844–850
60. **Caruso... 2003:** Caruso P., Bertolini, E., Cambra, M., and López, M. 2003. A new and sensitive co-operational polymerase chain reaction for rapid detection of *Ralstonia solanacearum* in water. Journal of Microbiological Methods 55: 257-272.
61. **Denny ... 2000:** Denny TP, Hayward AC. *Ralstonia solanacearum*. In: Schaad NW, Jones JB, Chun W, eds. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. St. Paul, MN: APS Press, 2000:151.

62. **Denny ... 2001:** Denny T. P., & Hayward, A. C. (2001). Gram-negative bacteria: *Ralstonia*. In N. W. Schaad, J. B. Jones, & W. Chun (Eds.), *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria* (pp. 151-174, 3rd edn). APS Press, St. Paul, M. N.
63. **Denny...2005:** Denny TP (2005) A short history of the biochemical and genetic research on *Ralstonia solanacearum* pathogenesis. In: C. Allen, P. Prior, and A. C. Hayward (eds.), *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum species complex*. APS Press, St. Paul, MN, pp 323-334
64. **Denny... 1991:** Denny TP, Baek SR. Genetic evidence that extracellular polysaccharide is a virulence factor of *Pseudomonas solanacearum*. *Mol Plant-Microbe Interact* 1991;4:198-206.
65. **Denny... 1990:** Denny TP, Carney BF, Schell MA. Inactivation of multiple virulence genes reduces the ability of *Pseudomonas solanacearum* to cause wilt symptoms. *Mol Plant-Microbe Interact* 1990; 3:293-300.
66. **Daughtrey, 2003:** Daughtrey M. 2003. *New and Re-emerging Diseases in 2003*. Department of Plant Pathology, Cornell University, Long Island Horticultural Research & Extension Center.
67. **Directive 2006:** Directive 2006; Brown Rot 98/57/EC (amended by Commission Directive 2006/63/EC).
68. **Dandurishvili...2011:**Dandurishvili N, Toklikishvili N, Ovadis M, Eliashvili P, Giorgobiani N, Keshelava R, Tediashvili M, Vainstein A, Khmel I, Szegedi E, Chernin. 2011. Broad-range antagonistic rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Serratia plymuthica* suppress *Agrobacterium* crown gall tumours on tomato plants. *J Appl Microbiol* 110: 341–352. 10.1111/j.1365-2672.
69. **Drigues... 1985:** Drigues P, Demery-Lafforgue D, Trigalet A, Dupin P, Samain D, Asselineau J. Comparative studies of lipopolysaccharide and exopolysaccharide from a virulent strain of *Pseudomonas solanacearum* and from 3 avirulent mutants. *J Bacteriol* 1985;162:504-509

70. **Darasse...** 1994: Darasse A., Kotoujanski and Y. Berthyeau. Isolation by genomic subtraction of DNA probes specific for *Erwinia amylovora* subsp. *Atroseptica*. Appl. Environ. Microbiology, 1994, v. 60, #1, pp. 2298-306.
71. **EPPO/CABI, 2006:** EPPO/CABI. Distribution maps of plant diseases: *Ralstonia solanacearum* (2003-2006). <http://www.cabi.org/DMPD/2006>.
72. **Elphinstone, 2001:** Elphinstone, J. G. 2001. Monitoring and control of the potato brown rot bacterium (*Ralstonia solanacearum*) in the UK: A case study in: Proceedings of the FNK/EAPR/ESA/UEITP 2nd European Potato Processing Conference. Held Nov., 14-15th. Lausanne, Switzerland.
73. **EU... 1998:** EU (1998) Council Directive 98/57/EC of 20 July 1998 on the control of *Ralstonia solanacearum*. Annex II-test scheme for the diagnosis, detection and identification of *Ralstonia solanacearum*. Official Journal of the European Communities, no. L235, 8-39
74. **El-Ariqi...** 2005: El-Ariqi SNS, El-Moflehi M, El-Arbara K, El-Kobati A, El-Shaari A. Antibacterial activity of extracts from *Withania somnifera* and *Aloe vera* against *Ralstonia solanacearum* in potato. Arab J Pl Prot.2005; 23:95-99.
75. **EPPO, 2004:** OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin, 2004; Diagnostic protocols for regulated pests Protocoles de diagnostic pour les organismes réglementés PM 7/21 34, 155 – 157
76. **EPPO, 2015:** EPPO. 2015. Eradication of *Ralstonia solanacearum* from Austria. EPPO Reporting Service 2: 2015-02 Elphinstone JG, Stanford HM & Stead DE (1998) Detection of *Ralstonia solanacearum* in potato tubers, *Solanum dulcamara*, and associated irrigation water. In: *Bacterial Wilt Disease: Molecular and Ecological Aspects* (Ed. Prior P, Allen C & Elphinstone J), pp.133-139. Springer Verlag, Berlin (DE).
77. **EU, 1998:** EU (1998) Council Directive 98/57/ EC of 20 July 1998 on the control of *Ralstonia solanacearum*. Annex II-test scheme for the diagnosis, detection and identification of *Ralstonia solanacearum*. Official Journal of the European Communities, no. L235, 8 – 39

78. **Elphinstone, 1995:** Elphinstone JG. The current bacterial wilt situation: a global overview. In: Allen C, Prior P, Hayward AC, eds. Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. St. Paul, MN: APS Press, 2005:9.
79. **Floyd, 2007:** Floyd J. 2007. New Pest Response Guidelines: *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2. USDAAPHIS-PPQ, Emergency and Domestic Programs
80. **Fegan... 2005:** Fegan M, Prior P. How complex is the "*Ralstonia solanacearum* species complex"? In: Allen C, Prior P, Hayward AC, eds. Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex. St. Paul, MN: APS Press, 2005:449.
81. **French...1995:** French, E.B., L. Gutarra, P. Aley, and J. Elphinstone 1995. Culture media for *Ralstonia solanacearum* isolation, identification, and maintenance. *Fitopatologia* 30(3):126-130.
82. **Forster, 1986:** Forster RC. The ultrastructure of the rhizoplane and rhizosphere. *Annu Rev Phytopathol* 1986;24:211-234.
83. **Feng... 2015:** Feng, Y.-J., Q.-F., Chen, M.-Y., Liang, D. and Zhang, P. (2015). "Parallel tagged amplicon sequencing of relatively long PCR products using the Illumina HiSeq platform and transcriptome assembly". *Molecular Ecology Resources*. doi:10.1111/1755-0998.1242
84. **Flaherty...2000:** Flaherty J. E., Jones J. B., Harbaugh B. K., Somodi G. C., Jackson L. E. (2000). Control of bacterial spot on tomato in the greenhouse and field with H-mutant bacteriophages. *HortScience* 35, 882–884
85. **Funke... 1998:** Funke G, Monnet D, deBernardis C, von GA, Freney J. 1998. *J. Clin. Microbiol*, 36:1948-52
86. **FRENCH... 1993:** FRENCH, E. R.; ALEY, P.; TORRES, E.; NYDEGGER, U. Diversity of *Pseudomonas solanacearum* in Peru and Brazil. In: HARTMAN, G. L.; HAYWARD, A. C. (Ed.). Bacterial wilt. Canberra: ACIAR Proceedings,1993. p. 70-77.
87. **Glawe ... 1992:** Glawe DA (1992) Thomas J. Burrill, Pioneer in Plant Pathology. *Annual Review of Phytopathology* 30: 17-25
88. **Clough... 1997:** Clough SJ, Flavier AB, Schell MA, Denny TP. Differential expression of virulence genes and motility in *Ralstonia* (*Pseudomonas*) *solanacearum* during exponential growth. *Appl Environ Microbiol* 1997;63:844-850.

89. **Guo, 2013:** Guo, F. Visualization of uncorrelated, tandem symmetry mismatches in the internal genome packaging apparatus of bacteriophage T7. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **110**, 6811–6816 (2013).
90. **Guo... 2010:** Guo Y., Sagaram U. S., Kim J. S., Wang N. (2010). Requirement of the galU gene for polysaccharide production by and pathogenicity and growth in planta of *Xanthomonas citri* subsp. citri. *Appl. Environ. Microbiol.* **76**, 2234–2242
10.1128/AEM.02897-09
91. **Genoscope, 2010:** Genoscope (<http://www.genoscope.cns.fr>, France). Last updated 2010-4-8.
92. **Genin... 2004:** Genin S, Boucher C. Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. *Annu Rev Phytopathol* **2004**;42:107-13
93. **Genin... 2005:** Genin, S., Brito, B., Denny, TP, Boucher, C (2005) Control of the *Ralstonia solanacearum* Type III secretion system (Hrp) genes by the global virulence regulator PhcA. *FEBS Letters* **579**, 2077–2081.
94. **Genin... 2002:** Genin S¹, Boucher C. *Ralstonia solanacearum*: secrets of a major pathogen unveiled by analysis of its genome. *Mol Plant Pathol.* **2002** May 1; **3**(3):111-8. Doi: 10.1046/j.1364-3703.2002.00102.x.
95. **Gabriel... 2006:** Gabriel DW, Allen C, Schell M et al. Identification of open reading frames unique to a select agent: *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2. *Mol Plant-Microbe Interact* **2006**;19:69-79.
96. **Gillings...1993:** Gillings M, Fahy P. Genetic diversity of *Pseudomonas solanacearum* biovar 2 and biovar N2 assessed using restriction endonuclease analysis of total genomic DNA. *Plant Pathol* **1993**; **42**:744-753.
97. **González...2003:** González ET, Allen C. Characterization of a *Ralstonia solanacearum* operon required for polygalacturonate degradation and uptake of galacturonic acid. *Mol Plant-Microbe Interact* **2003**;16:536-544.
98. **George... 2015:** George P. C. Salmond & Peter C. Fineran *Nature Reviews Microbiology* **13**, 777–786 (2015) doi:10.1038/nrmicro3564
99. **Gunther...1975:** Gunther S. Stent, G. Stent, Little, Brown, Papers on bacterial viruses, selected by 1975 (out of print).

100. **Hayward, 1991:** Hayward AC. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Annu Rev Phytopathol*; 1991; 29:65-87
101. **Hayward... 1964:** Hayward, A. C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl. Bacteriol.*, 27(2) : 265–77.
102. **Hossain... 2007:** Hossain, M. A., Hossain, M. D., Nasiruddin, K. M. and Khokon, M. A. R. 2007. Plasmid DNA analysis from *Pseudomonas* spp. and *Ralstonia solanacearum* and their reaction to antibiotics. *Bangladesh J. Crop Sci.*, 18(1): 187-193.
103. **He... 193:** He, L. Y., Sequeira, L. and Kelman, A. 1983. Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Dis.*, 67: 1357–1361
104. **Hayward, 2000:** Hayward AC (2000) *Ralstoniasolanacearum*. *Encyclopedia of Microbiology*, Vol. 4, 2nd edn, pp. 32–42. Academic Press, London (GB).
105. **Hugh...1953:** Hugh, R., and E. Leifson. 1953. The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various gram-negative rods. *J. Bacteriol.* 66:24–26.
106. **Huang... 1997:** Huang Q, Allen C. An exo-poly-alpha-D-galacturonosidase, PehB, is required for wild-type virulence of *Ralstonia solanacearum*. *J Bacteriol* 1997;179:7369-7378.
107. **Hikichi... 2007:** Hikichi Y, Yoshimochi T, Tsujimoto S et al. Global regulation of pathogenicity mechanism of *Ralstonia solanacearum*. *Plant Biotechnol* 2007;24:149-154.
108. **He... 2004:** He SY, Nomura K, Whittam TS. Type III protein secretion mechanism in mammalian and plant pathogens. *Mol Cell Res* 2004;1694:181-206.
109. **Hendrick... 1984:** Hendrick CA, Sequeira L. Lipopolysaccharide-defective mutants of the wilt pathogen *Pseudomonas solanacearum*. *Appl Environ Microbiol* 1984;48:94-1
110. **Hayward, 1994:** Hayward AC, 1994. Systematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. In: Hayward AC, Hartman GL, eds. *Bacterial Wilt: the Disease and its Causative Agent, Pseudomonas solanacearum*. Wallingford, UK: CAB International, 123–35.
111. **Indrasenan... 1981:** Indrasenan, G., Kumar, K.V., Mathew, J., and Mammen, M.K. (1981) The mode of survival of *Pseudomonas solanacearum* (Smith) causing bacterial wilt of ginger. *Agric. Res. J., Kerala*, 19 (2), 93-95.

112. **Islam... 1990:** Islam M.N., Karim M.A., Nessa Z. Control of the Potato tuber moth, *Phthorimea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae) in the storehouse seeds and were potatoes in Bangladesh. *Bangladesh Journal of Zoology* . 1990, 18: 1, 41-52; 15 ref.
113. **Janse... 1998:** Janse JD, Araluppan FAX, Schans J, Wenneker M, Westerhuis W. Experiences with bacterial brown rot *Ralstonia solanacearum* biovar 2, race 3, in The Netherlands. In: Prior P, Allen C, Elphinstone J, eds. *Bacterial wilt disease. Molecular and ecological aspects*. Berlin: Springer-Verlag, 1998:146.
114. **Jai... 2011:** Jai Sunder, S. Jeyakumar, A. Kundu, R. C. Srivastava and Arun Kumar De; Effect Effect of *Morinda citrifolia* extracts on in-vitro growth of *Ralstonia solanacearum*; *Archives of Applied Science Research*, 2011, 3 (3):394-402)
115. **Janse, 1996:** Janse JD, 1996. Potato brown rot in western Europe - history, present occurrence and some remarks on possible origin, epidemiology and control strategies. *Bulletin OEPP*, 26(3/4):679-695; 109 ref.
116. **Janse... 2004:** Janse JD, Beld HEvan den, Elphinstone J, Simpkins S, Tjou-Tam-Sin NNA, Vaerenbergh Jvan, 2004. Introduction to Europe of *Ralstonia solanacearum* biovar 2, race 3 in *Pelargonium zonale* cuttings. *Journal of Plant Pathology*, 86(2):147-155.
117. **Ji.... 2005:** Ji P, Momol MT, Olson SM, Pradhanang PM, Jones JB. Evolution of Thymol as Biofungicide for control of Bacterial wilt of tomato under field conditions. *Plant Dis*. 2005;89:497-500.
118. **Kelman, 1954:** Kelman A. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 1954;44:693-695.
119. **Kumar... 1993:** Kumar, V., Singh, B. M. and Sugha, S. K. 1993. Variation in isolates of *Pseudomonas solanacearum* from Himachal Pradesh. *Indian. J. Mycol. Pl. Path.*, 23: 232-236
120. **Kumar... 2002:** Kumar, A., Sarma, YR., and Priou, S. (2002) Detection of bacterial wilt pathogen, *Ralstonia solanacearum* in ginger rhizomes using post-enrichment NCM ELISA. *J. Spices Aromatic Crops*, 11, 35-40.

121. **Kang... 2002:** Kang YW, Liu HL, Genin S, Schell MA, Denny TP. *Ralstonia solanacearum* requires type 4 pili to adhere to multiple surfaces and for natural transformation and virulence. *Mol Microbiol* 2002;46:427-437
122. **Kelman... 1973:** Kelman A, Hruschka J. Role of motility and aerotaxis in selective increase of avirulent bacteria in still broth cultures of *Pseudomonas solanacearum*. *J Gen Microbiol* 1973;76:177-188.
123. **Kelman...1951:** Kelman A, Jensen JH. Maintaining virulence in isolates of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 1951;41:185-187
124. **Kelman, 1953:** Kelman A. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. A literature review and bibliography. Raleigh, N.C.: North Carolina State College, 1953.
125. **Kumar... 1993:** Kumar, V., Singh, B. M. and Sugha, S. K. 1993. Variation in isolates of *Pseudomonas solanacearum* from Himachal Pradesh. *Indian. J. Mycol. Pl. Path.*, 23: 232-236
126. **Keen, 1990:** Keen NT. Gene-for-gene complementarity in plant-pathogen interactions. *Annu Rev Genet* 1990;24:447-463
127. **Karumidze... 2012:** Karumidze N, Kusradze I, Rigvava S, Goderdzishvili M, Rajakumar K, Alavidze Z. 2012. *Curr. Microbiol.*
128. **Klement... 1990:** Klement K., Rudolph K., Sands D.C. (1990). *Methods in Phytobacteriology*. Intl Specialized Book Service Inc. Pp 810.
129. **Kotila...1925:** Kotila JE, Coons GH. Investigations on the blackleg disease of potato. *Michigan Agricultural Experimental Station Technical Bulletin*. 1925;67:3-29.
130. **Katznelson, 1937:** Katznelson H. Bacteriophage in relation to plant diseases. *Bot Rev*. 1937;3:499-21. doi: 10.1007/BF02870486.
131. **Kim... 2003:** Kim, S. H., T. N. Olson, N. W. Schaad, and G. W. Moorman. 2003. *Ralstonia solanacearum* Race 3, Biovar 2, the Causal Agent of Brown Rot of Potato, Identified in Geraniums in Pennsylvania, Delaware, and Connecticut. *Plant Disease* Page 87:4.
132. **Kalpage... 2014:** Kalpage* M. D. and D. M. De Costa, 2014 ; Isolation of Bacteriophages and Determination of their Efficiency in Controlling *Ralstonia solanacearum* Causing Bacterial Wilt of Tomato; *Tropical Agricultural Resear*

133. **Liu... 2001:** Liu HL, Kang YW, Genin S, Schell MA, Denny TP. Twitching motility of *Ralstonia solanacearum* requires a type IV pilus system. *Microbiology* 2001; 147:3215-3229
134. **Liu... 2005:** Liu HL, Zhang SP, Schell MA, Denny TP. Pyramiding, unmarked deletions in *Ralstonia solanacearum* shows that secreted proteins in addition to plant cell-wall-degrading enzymes contribute to virulence. *Mol Plant-Microbe Interact* 2005;18:1296-1305
135. **Lopes... 1993: Lopes C.A.; Nazarbeno N. R. X.; Furiatti R.S.** Prevalência, mas não exclusividade, da raça 3 de *Pseudomonas solanacearum* em batata no Estado do Paraná. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília,v. 18(Supl.), p.312, 1993.
136. **Lemessa... 2007:** Lemessa F, Zeller W. Screening rhizobacteria for biological control of *Ralstonia solanacearum* in Ethiopia. *Biol Control*. 2007;42:336–344.
137. **Lemos... 2005:** Lemos J.A., X.S. Passos, O.F.L. Fernandes, J.R. Paula, P.H. Ferri, *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*,2005,100,55-58. Lopez P., C.Sanchez, R. Battle, R. Nerin, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 2005,53, 6939-6949.
138. **Larkin... 2007:** Larkin R.P., T.S. Griffins, *Crop Protection*, 2007, 26, 1067-1077.
139. **Muradashvili... 2014:** Muradashvili M., G. Meparishvili, Z. Sikharulidze and S. Meparishvili First report of Potato brown rot caused by *Ralstonia solanacearum* in Georgia // *Journal of Plant Pathology*, 2014, V.1N01.Doi:10.4454/Jpp.N9614.022
140. **Meyer... 2006:** Meyer D, Cunnac S, Gueneron M et al. PopF1 and PopF2, two proteins secreted by the type III protein secretion system of *Ralstonia solanacearum*, are translocators belonging to the HrpF/NopX family. *J Bacteriol* 2006;188:4903-4917
141. **Murmur, 1961:** Murmur J., “A Procedure for the Isolation of Deoxyribonucleic Acid from Micro-Organisms,” *Journal of Molecular Biology*, Vol. 3, 1961, pp. 208-218.
142. **Mepharishvili ... 2012:** Mepharishvili G. 1, Z. Sikharulidze 1, R. Thwaites 2, T. Tsetskhladze 1, R. Dumbadze 1, M. Gabaidze 1 and M. Muradashvili 1 *New Disease Reports* (2012) 25, 16. [doi:10.5197/j.2044-0588.2012.025.016].
143. **MACIEL... 2001:** MACIEL, J. L. N.; SILVEIRA, J. R. P.; VAN DER SAND, S. T.; DUARTE, V. Frequência de biovares de *Ralstonia solanacearum* em diferentes cultivares e

- épocas de cultivo de batata no Rio Grande do Sul. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 26, n. 4, p. 741-744, 2001. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582001000400009>
144. **Milling ... 2009:** Milling, A., Meng, F., Denny, T.P., and Allen, C. 2009. Interactions with hosts at cool temperature, not cold tolerance, explain unique epidemiology of *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2. *Phytopathology* 99: 1127-1134.
 145. **Marco... 2008:** Marco-Noales, E., Bertolini, E., Morente, C., and López, M. M. 2008. Integrated approach for detection of nonculturable cells of *Ralstonia solanacearum* in asymptomatic *Pelargonium* spp. cuttings. *Phytopathology* 98(8): 949-955.
 146. **Mallmann... 1924:** Mallmann WL, Hemstreet CJ. Isolation of an inhibitory substance from plants. *Agricultural Research*.1924; 28:599-02.
 147. **Metreveli ... 2003:** Metreveli M., Bregvadze M. „The Phytoncidal Activity of decorative Plants in Batumi botanical garden” *Biulletin of the Georgian Academy of Sciences*, Vol. 173, №3, Tbilisi, 2003, pp. 560-561.
 148. **Metreveli... 2006:** Metreveli M., Tchaidze F. „The decorative Importance and Phytoncidal Activity of Hamamelidaceae and Magnoliaceae Families introduced” (Chaidze F.) *Proceedings of the International Botanical Conference, Mardakan Arboretum, Baku, 2006*, pp. 245-247
 149. **Morozova... 2008:** Morozova, Marra O (Nov 2008). "Applications of next-generation sequencing in functional genomics". *Genomics* 92 (5): 255-64. doi:10.1016/j.ygeno.2008.07.001. PMID 18703132.
 150. **Markeya... 2007:** Markeya B., Wanb C., Hangerc J., Phillipsc C. and Timmsb. P., 2007, Use of quantitative real-time PCR to monitor the shedding and treatment of chlamydiae in the koala (*Phascolarctos cinereus*), *Vet Microbiol*, 120, 334-342.
 151. **Mao... 1998:** Mao GZ, He LY (1998) Relationship of wild type strain motility and interaction with host plants In *Ralstonia solanacearum*. In: Prior PH, Allen C, Elphinstone J (eds) *Bacterial wilt disease: molecular and ecological aspects*. Springer-Verslag, Berlin, Germany, pp. 184-191.
 152. **Nimchuk... 2003:** Nimchuk Z, Eulgem T, Holt BE, Dangl JL. Recognition and response in the plant immune system. *Annu Rev Genet* 2003;37:579-609
 153. **Nelson... 2013:** Nelson Scot *Bacterial Wilt of Edible Ginger in Hawai'i Plant Disease* October 2013 PD-99

154. **Ozakman... 2003:** Ozakman M. and Schaad N.W., 2003, A real-time BIO-PCR assay for detection of *Ralstonia solanacearum* race 3, biovar 2, in asymptomatic potato tubers, *Can J Plant Pathol*, 25, 232-239.
155. **Ozawa... 2001:** Ozawa, H., Tanaka, H., Ichinose, Y., Shiraishi, T., & Yamada, T. (2001). Bacteriophage P4282, a parasite of *Ralstonia solanacearum*, encodes a bacteriolytic protein important for lytic infection of its host. *Mol. Genet. Genom...*, 265, pp. 95-101.
156. **Oberst... 1998:** Oberst R.D., Hays M.P., Bohra L.K., Phebus R.K., Yamashiro C.T., Paszko-Kolva C., Flood S.J.A., Sargeant J.M., Gillespie J.R., 1998, PCR-based DNA amplification and presumptive detection of *Escherichia coli* O157:H7 with an internal fluorogenic probe and the 5' nuclease (TaqMan) assay, *Appl Environ Microbiol*, 64, 3389–3396.
157. **Orgambide ... 1991:** Orgambide G, Montrozier H, Servin P, Roussel J, Trigalet-Demery D, Trigalet A. High heterogeneity of the exopolysaccharides of *Pseudomonas solanacearum* strain GMI 1000 and the complete structure of the major polysaccharide. *J Biol Chem* 1991;266:8312-8321.
158. **OEPP/EPPO, Bulletin 2004:** OEPP/EPPO, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 2004; 34, 155 –15
159. **Pegg... 1974:** Pegg, K.G., Moffett, M.L., and Colbran, R.C. (1974) Diseases of ginger in Queensland. *Queensland Agric. J.*, 100, 611-618.
160. **Poussier... 1999:** Poussier S., Vandewalle P, Luisetti J, 1999. Genetic diversity of African and worldwide strains of *Ralstonia solanacearum* as determined by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of the *hrp* gene region. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(5):2184-2194; 47 ref.
161. **Poussier... 2003:** Poussier S, Thoquet P, Trigalet-Demery D et al. Host plant-dependent phenotypic reversion of *Ralstonia solanacearum* from non-pathogenic to pathogenic forms via alterations in the *phcA* gene. *Mol Microbiol* 2003;49:991-1003.
162. **Pastrik & Maiss 2000:** Pastrik KH &Maiss E (2000) Detection of *Ralstoniasolanacearum* in potato tubers by polymerase chain reaction. *Journal of Phytopathology* 148, 619–626.

163. **Priou... 2006:** Priou, S., Gutarra, L., and Aley, P. 2006. Sensitive detection of *Ralstonia solanacearum* in soil: a comparison of different detection techniques. *Plant Pathology* 49:414-422.
164. **Prior... 2005:** Prior, P., and M. Fegan. 2005. Recent development in the phylogeny and classification of *Ralstonia solanacearum*, p. 127-136. *In* T. Momol, P. Ji, and J. B. Jones (ed.), *Proceedings of the First International Symposium on tomato diseases*, vol. 695. International Society for Horticultural Science, Brugge, Belgium.
165. **Roberts... 2010:** Roberts DP, Denny TP, Schell MA. Cloning of the *egl* gene of *Pseudomonas solanacearum* and analysis of its role in phytopathogenicity. *J Bacteriol* 1988;170:1445-1451
166. **Rahman... 2010:** Rahman M. F., M. R. Islam, T. Rahman and M. B. Meah | Biochemical characterization of *Ralstonia solanacearum* causing bacterial wilt of brinjal in Bangladesh. *Progress. Agric.* 21(1 & 2): 9 – 19, 2010
167. **Rhouma... 2009:** Rhouma, A., Ben Daoud, H., Ghanmi, S., Ben Salah, H., Romdhane, M., Demak, M. 2009. Antimicrobial activities of leaf extracts of *Pistacia* and *Schinus* species against some plant pathogenic fungi and bacteria. *J Plant Pathol.* 91:339–345.
168. **Ruska... 1940:** Ruska, H., von Borries, B. & Ruska, E. Die Bedeutung der Übermikroskopie für die Virusforschung. *Arch. Virusforsch (Arch. Virol.)* 1, 155–169 (in German) (1940).
169. **Smith, 1896:** Smith E.F. A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato (*Bacillus solanacearum* n-sp.) *Bulletin Division of vegetable Physiology and Pathology, United States Department of Agriculture*, 1896, 12, 1-28.
170. **Swanson... 2005:** Swanson JK, Yao J, Tans-Kersten J, Allen C. Behaviour of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 during latent and active infection of geranium. *Phytopathology* 2005;95:136-143
171. **Siri... 2011:** Siri MI, Sanabria A, Pianzola MJ, 2011. Genetic diversity and aggressiveness of *Ralstonia solanacearum* strains causing bacterial wilt of potato in Uruguay. *Plant Disease*, 95(10):1292-1301. <http://apsjournals.apsnet.org/loi/pdis>

172. **Schell, 2000:** Schell MA. Control of virulence and pathogenicity genes of *Ralstonia solanacearum* by an elaborate sensory network. Annual Review of Phytopathology , 2000; 38:263-292
173. **Silviera ... 2002:** Silviera, J.R.P.; Duarte, V.; Moraes M.G. Ocorrência das biovar 1 e 2 de *Ralstonia solanacearum* em lavouras de batata no Estado do Rio Grande do Sul. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 27, n.5, p. 450-453, 2002. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582002000500002>
174. **Saddler, 1994:** Saddler GS (1994) IMI Descriptions of Fungi and Bacteria, 1220. *Burkholderia solanacearum*. Mycopathologia 128, 61–63
175. **Sateesh... 2004:** Sateesh K., T. Marimuthu, B. Thayumana van, R. Nandakumar, R. Samiyappan Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae pv Oryzae* Physiological and Molecular Plant Pathology, 65 (2004), pp. 91–100
176. **Smith... 1908:** Smith EF. The Granville tobacco wilt. Bur. Plant Ind. Bul. 141 (Part II). U. S. Dept. Agr., 1908:17.
177. **Smith, 1920:** Smith EF. The brown rot of Solanaceae. Bacterial diseases of plants. U.S.A.: Saunders Company, 1920:177.
178. **Salanoubat... 2000:** Salanoubat M, Genin S, Artiguenave F et al. Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. Nature 2002;415:497-502
179. **Schell, 1987:** Schell MA. Purification and characterization of an endoglucanase from *Pseudomonas solanacearum*. Appl Environ Microbiol 1987;53:2237-2241.
180. **Stockwell... 1998:** Stockwell V. O., Johnson K.B., Loper J. F. Establishment of bacterial antagonists of *Erwinia amylovora* on pear and apple blossoms as influenced by inoculum preparation. Phitopathology, 1998, v. 88, pp. 506-513.
181. **Schell, 2000:** Schell, M. A. 2000. Control of virulence and pathogenicity genes of *R. solanacearum* by an elaborate sensory array. Annu. Rev. Phytopathol., 38: 263-292.
182. **Schell... 1988:** Schell MA, Roberts DP, Denny TP. Analysis of the *Pseudomonas solanacearum* polygalacturonase encoded by *pglA* and its involvement in phytopathogenicity. J Bacteriol 1988;170:4501-4508.

183. **Shew... 1991:** Shew, H.D. and G.B. Lukas. Eds. 1991. Compendium of Tobacco Diseases. APS Press, St. Paul, MN.
184. **Sneath... 1973:** Sneath P.H. A. and Sokal R.R. (1973). Numerical Taxonomy. Freeman, San Francisco
185. **Seal... 1993:** Seal S.E., Jackson L.A., Young J.P.W. and Daniels M.J., 1993, Differentiation of *Pseudomonas solanacearum*, *Pseudomonas syzygii*, *Pseudomonas pickettii* and the blood disease bacterium by partial 16S rRNA sequencing: construction of oligonucleotide primers for sensitive detection by polymerase chain reaction, *J Gen Microbiol*, 139, 1587-1594.
186. **Suslow... 1982:** Suslow, T. V., Schroth, M. N. and Isaka, M. H. 1982. Application of rapid method for gram differentiation of plant pathogenic and saprophytic bacteria without staining phytopathology, 72: 917-918.
187. **Seal... 1992:** Seal S. E., Jackson L.A. and Daniels M.J., 1992, Use of tRNA consensus primers to indicate subgroups of *Pseudomonas solanacearum* by polymerase chain reaction amplification, *Appl Environ Microbiol*, 58, 3759-3761.
188. Seal... 1999: Seal SE, Taghavi M, Fegan N, Hayward AC, Fegan M, 1999. Determination of *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* rDNA subgroups by PCR tests. *Plant Pathology*, 48(1):115-120; 25 ref.
189. **Sundin... 1996:** Sundin G. W., Bender C.L. Dissemination of the *strA* – *strB* streptomycin resistance genes commensal and pathogenic bacteria from humans, animals and plants. *Mol. Ecol.*, 1996, 5:133-143-143
190. **Salanoubat... 2002:** Salanoubat M1, Genin S, Artiguenave F, Gouzy J, Mangenot S, Arlat M, Billault A, Brottier P, Camus JC, Cattolico L, Chandler M, Choisine N, Claudel-Renard C, Cunnac S, Demange N, Gaspin C, Lavie M, Moisan A, Robert C, Saurin W, Schiex T, Siguier P, Thébault P, Whalen M, Wincker P, Levy M, Weissenbach J, Boucher CA Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*; PubMed - indexed for MEDLINE; PMID: 11823852 ; DOI: 10.1038/415497a; 2002 Jan 31;415(6871):497-502.
191. **Swanson... 2007:** Swanson J.K., Montes L., Mejia L. and Allen C., 2007, Detection of Latent Infections of *Ralstonia solanacearum* Race 3 Biovar 2 in Geranium, *Plant Dis*, 91, 828-834.

192. **Tham...** 2006: Tham makijawat P., Thaveechai N., Kositratana W., Chunwongse J., Frederick, R.D. and Schaad N.W., 2006, Detection of *Ralstonia solanacearum* in ginger rhizomes by real-time PCR, *Can J Plant Pathol*, 28, 391-400.
193. **Tim...** 2001: Tim Momol, Prakash Pradhanang, and Carlos A. Lopes , one of a series of the Plant Pathology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Published November 2001; PP 189. Web site at <http://edis.ifas.ufl.edu>
194. **Taghavi...** 1996: Taghavi M., Hayward A.C., Sly L.I. and Fegan M., 1996, Analysis of the phylogenetic relationships of strains of *Burkholderia solanacearum*, *Pseudomonas syzygii*, and the Blood Disease Bacterium of banana based on 16S rRNA gene sequences, *Int J Syst Bacteriol*, 46, 10-15.
195. **Tamura...** 2004: Tamura K., Nei M., and Kumar S. (2004). Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* 101:11030-11035
196. **Tanaka...** 1990: Tanaka, H., Negishi, H., & Maeda, H. (1990). Control of tobacco bacterial wilt by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* M4S and its bacteriophage. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan*, 56, pp. 243-246.
197. **Toyoda...** 1991: Toyoda, H., Kakutani, K., Ikeda, S., Goto, S., Tanaka, H., & Ouchi, S. (1991). Characterization of deoxyribonucleic acid of virulent bacteriophage and its infectivity to host bacterium, *Pseudomonas solanacearum*. *J. Phytopathol.*, 131, pp. 11-21.
198. **Trigalet...** 1986: Trigalet A, Demery D. Invasiveness in tomato plants of Tn5-induced avirulent mutants of *Pseudomonas solanacearum*. *Physiol Mol Plant Pathol* 1986;28:423-430.
199. **Tans-Kersten...** 1998: Tans-Kersten J, Guan YF, Allen C. *Ralstonia solanacearum* pectin methylesterase is required for growth on methylated pectin but not for bacterial wilt virulence. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:4918-4923.
200. **Tans-Kersten...**2001: Tans-Kersten J, Huang HY, Allen C. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *J Bacteriol* 2001;183:3597-3605.

201. **Takashi, 2012:** Takashi Yamada Bacteriophages of *Ralstonia solanacearum*: Their Diversity and Utilization as Biocontrol Agents in Agriculture, 2012 book edited by Ipek Kurtboke, ISBN 978-953-51-0272-4, Published: March 14, 2012 under CC BY 3.0 license.
© The Author(s))
202. **Tamura... 2013:** Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipski A., and Kumar S. (2013). MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725-2729.
203. **Van... 1993:** Van Gijsegem F, Genin S, Boucher C. Conservation of secretion pathways for pathogenicity determinants of plant and animal bacteria. *Trends Microbiol* 1993;1:175-180
204. **Venkanna... 2012:** Venkanna L., M Estari* In vitro antimicrobial activity of some medicinal plants used by tribes in Warangal district (Andhra Pradesh), India; 2012 *Biology and Medicine*, 4(2): 85-88).
205. **Valls... 2006:** Valls M, Genin S, Boucher C. Integrated regulation of the type III secretion system and other virulence determinants in *Ralstonia solanacearum*. *Plos Pathogens* 2006;2:798-807.
206. **Van Elsas... 2001:** Van Elsas JD, Kastelein P, de Vries PM, van Overbeek LS. Effects of ecological factors on the survival and physiology of *Ralstonia solanacearum* bv. 2 in irrigation water. *Can J Microbiol* 2001; 47:842-85
207. **Vidaver ...1973:** Vidaver A.K., Koski, R.K. and Vanetten J.L. (1973). Bacteriophage ϕ 6: a lipid-containing virus of *Pseudomonas phaseolicola*. *Journal of Virology* 11, 799-805.
208. **Vasse... 1995:** Vasse J, Frey P, Trigalet A. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*. *Mol Plant-Microbe Interact* 1995; 8(2):241-251
209. **Vasse... 2000:** Vasse J., Genin S., Frey P., Boucher C., Brito B. (2000). The *hrpB* and *hrpG* regulatory genes of *Ralstonia solanacearum* are required for different stages of the tomato root infection process. *Mol. Plant Microbe Interact.* 13 259-267
10.1094/MPMI.2000.13.3.259 [PubMed] [Cross Ref]

210. **Weller... 2000:** Weller S.A., Elphinstone J.G., Smith N.C., Boonham N. and Stead D.E., 2000, Detection of *Ralstonia solanacearum* strains with a quantitative, multiplex, real-time, fluorogenic PCR (TaqMan) assay, *Appl Environ Microbiol*, 66, 2853–2858
211. **Wicker... 2011:** Wicker E, Lefeuvre P, Cambiaire JCde , Lemaire C, Poussier S, Prior P, 2011. Contrasting recombination patterns and demographic histories of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from MLSA. *The ISME Journal*, 17 November 2011(doi:10.1038/ismej.2011.160).
212. **Young... 1986:** Young DH, Sequeira L. Binding of *Pseudomonas solanacearum* fimbriae to tobacco leaf cell-walls and its inhibition by bacterial extracellular polysaccharides. *Physiol Mol Plant Pathol* 1986; 28:393-402.
213. **Yamada... 2007:** Yamada, T., Kawasaki, T., Nagata, S., Fujiwara, A., Usami, S., & Fujie, M. (2007). New bacteriophages that infect the phytopathogen *Ralstonia solanacearum*. *Microbiology*, 153, pp. 2630-2639.
214. **Yao...2006:** Yao J, Allen C. Chemotaxis is required for virulence and competitive fitness of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *J Bacteriol* 2006; 188:3697-3708.
215. **Yabuuchi... 1992:** Yabuuchi, E.; Kosako, Y.; Oyaizu, H.; Yano, I; Hotta, H.; Hashimoto, Y.; Ezaki, T.; Arakawa, M. Proposal of *Burkholderia* gen. nov. And transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni & Holmes 1981) comb. nov. *Microbiology and Immunology* 1992; 36, 1251-1275.
216. **Zubeda, 2011:** Zubeda Chaudhry¹ and Hamid Rashid. Isolation and Characterization of *Ralstonia Solanacearum* from infected tomato plants of Soanskesar valley of punjab Pak. *J. Bot.*, 43(6): 2979-2985, 2011

ინტერნეტ წყაროები:

217. <http://www.ictvonline.org/>
218. <http://www.khulo.ge/>
219. <http://samtskhe-javakheti.gov.ge/>
220. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>
221. <http://technology.illumina.com/>
222. <http://ncppb.fera.defra.gov.uk>

2011-2015 წლებში საქართველოს სხვადასხვა რეგიონში გავრცელებული *Ralstonia solanacearum* იზოლატები

#	<i>Ralstonia solanacearum</i> იზოლატები	გავრცელების არეალი	მასპინძელი მცენარე, ჯიში	გამოყოფის დრო
1	AcP1	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, მარფონა.	2011
2	AcP2	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, მარაბელი	2011
3	AcP3	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, აგრია	2011
4	AcP4	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, პიკასო	2011
5	AcP5	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, ჯელი	2011
6	KhP6	ხულო, სოფ: ტაბახმელა	კარტოფილი, პიკასო	2011
7	KhP7	ხულო, სოფ: ტაბახმელა	კარტოფილი, ჯელი	2011
8	KhP8	ხულო, სოფ: ტაბახმელა	კარტოფილი, აგრია	2011
9	KhP9	ხულო, სოფ: ტაბახმელა	კარტოფილი, მარფონა	2011
10	KhP10	ხულო, სოფ: ტაბახმელა	კარტოფილი, მარაბელი	2011
11	KoP11	ქობულეთი სოფ: გვარა	კარტოფილი	2011
12	KoP12	ქობულეთი სოფ: ხუცუბანი	კარტოფილი	2011
13	KoP13	ქობულეთი სოფ: ხუცუბანი	კარტოფილი	2011
14	KoP14	ქობულეთი	კარტოფილი	2011
15	GoP15	გორი	კარტოფილი	2011
16	KoP16	ქობულეთი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, მარაბელი	2012
17	KoP17	ქობულეთი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, პიკასო	2012
18	KoP18	ქობულეთი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, მარფონა	2012

29	KoPe19	ქობულეთი	წიწაკა	2012
20	KoP20	ქობულეთი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, აგრია	2012
21	KoP21	ქობულეთი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი	2012
22	TsP22	წალვერი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, პიკასო	2012
23	TsP23	წალვერი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, ჯელი	2012
24	TsP24	წალვერი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, აგრია	2012
25	KoT25	ქობულეთი	პომიდორი	2013
26	KuT26	ქუთაისი	პომიდორი	2013
27	ChkhT27	ჩხორუწყუ	პომიდორი	2013
28	BBG.Str.28	ბათუმი, ბოტანიკური ბაღი	<i>Strelitziaspp</i>	2013
29	Ko. Pel.29	ქობულეთი	<i>Pelargonium zonale</i>	2013
30	KoP30	ქობულეთი	წიწაკა	2013
31	KoEg31	ქობულეთი	ბადრიჯანი	2013
32	KhP32	ხულო, სოფ: დიდაჭარა	კარტოფილი, ვიქტორია	2013
33	KhP33	ხულო, სოფ: ტაბახმელა	კარტოფილი, ჯელი	2013
34	KhP34	ხულო, სოფ: ტაბახმელა	კარტოფილი, დეზირე	2013
35	KhP35	ხულო, სოფ: ტაბახმელა	კარტოფილი, დეზირე	2013
36	AkhP36	ახალქალაქი, სოფ: ხოსპიო	კარტოფილი	2013
37	AkhP37	ახალქალაქი, სოფ: ხოსპიო	კარტოფილი	2013
38	AkhP38	ახალქალაქი, სოფ: ჩანდურა	კარტოფილი	2013
39	AkhP39	ახალქალაქი, სოფ: მუჯახეთი	კარტოფილი	2013
40	NiP40	ნინოწმინდა	კარტოფილი	2013
41	AkhP41	ახალქალაქი, სოფ: არაგვა	კარტოფილი	2013
42	AkhP42	ახალქალაქი, სოფ:	კარტოფილი	2013

		კოტელა		
43	NiP43	ნინოწმინდა	კარტოფილი	2013
44	AkhP44	ახალციხე	კარტოფილი, ჯიში - იმპალა	2013
45	KoP45	ქობულეთი, სოფ: გვარა	კარტოფილი, ჯიში - პიკასო	2013
46	KoT46	ქობულეთი	პომიდორი	2013
47	KoT47	ქობულეთი	პომიდორი	2013
48	KoT48	ქობულეთი, სოფ: ბობოყვათი	პომიდორი	2013
49	KoT49	ქობულეთი, საცდელი სათბური	პომიდორი	2013
50	KoGhT50	ქობულეთი, საცდელი სათბური	პომიდორი	2013
51	KeT51	ქედა	პომიდორი	2013
52	KhT52	ხულო	პომიდორი	2013
53	Ko.Pel.53	ქობულეთი	<i>Pelargonium zonale</i>	2013
54	BBGStr.54	ბათუმი, ბოტანიკური ბაღი	<i>Strelitzia spp.</i>	2013
55	AcP55	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, იმპალა	2014
56	AcP56	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, იმპალა	2014
57	AcP57	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, პიკასო	2014
58	AcP58	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, ჯელი	2014
59	AcP59	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, ჯელი	2014
60	AcP60	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, ჯიში - ჯელი	2014
61	AcP61	ახალციხე, წნისის საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი	2014
62	AcP62	ახალციხე, სოფ: მსხვირისი	კარტოფილი	2014
63	KoP63	ქობულეთი, სოფ: გვარა	კარტოფილი, ჯიში - პიკასო	2014

64	KoT64	ქობულეთი	პომიდორი	2014
65	KoT65	ქობულეთი, სოფ: ხუცუბანი	პომიდორი	2014
66	OzT66	ოზურგეთი, სოფ: ბაში	პომიდორი	2014
67	OzT67	ოზურგეთი, სოფ: ძიმისი	პომიდორი	2014
68	SaGhT68	სამტრედია, კერძო სათბური	პომიდორი	2014
69	SaGhT69	სამტრედია, სოფ: ბაში, სათბური	პომიდორი	2014
70	SaGhT70	სამტრედია, კერძო სასათბურე მეურნეობა	პომიდორი	2014
71	OzPe71	ოზურგეთი სოფ: ბაში	წიწაკა	2014
72	OzPe72	ოზურგეთი სოფ: ნასაკირალი	წიწაკა	2014
73	OzPe73	ოზურგეთი სოფ: ძიმისი	წიწაკა	2014
74	OzPe74	ოზურგეთი სოფ: ბაში	წიწაკა	2014
75	AkhP75	ახალქალაქი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, მარფონა	2014
76	AkhP76	ახალქალაქი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, მარფონა	2014
77	AkhP77	ახალქალაქი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, მარფონა	2014
78	AkhqP	ახალქალაქი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, იმპალა	2014
79	AkhP79	ახალქალაქი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, იმპალა	2014
80	AkhP80	ახალქალაქი, საცდელი ნაკვეთი	კარტოფილი, იმპალა	2014
81	AkhP81	ახალქალაქი, სოფ: რუსთავი	კარტოფილი	2014
82	AkhP82	ახალქალაქი, სოფ: რუსთავი	კარტოფილი	2014
83	BBG.Str.83	ბათუმი ბოტანიკური ბაღი	<i>Strelitzia spp.</i>	2014
84	BBG.Str.84	ბათუმი ბოტანიკური ბაღი	<i>Strelitzia spp.</i>	2014
85	OzT85	ოზურგეთი	პომიდორი	2014
86	OzT86	ოზურგეთი	პომიდორი	2014
87	OzT87	ოზურგეთი, სათბური	პომიდორი	2014

88	KhT88	ხულო, სოფ: ქედლები	პომიდორი	2014
89	KhT89	ხულო, სოფ: ქედლები	პომიდორი	2014
90	KhPe90	ხულო	წიწაკა	2014
91	KhPe91	ხულო, სოფ: დეკანაძეები	წიწაკა	2014
92	KeT92	ქედა	პომიდორი	2014
93	KeT93	ხულო, სოფ: განახლება	პომიდორი	2014
94	KePe94	ხულო, სოფ: განახლება	წიწაკა	2014
95	KeT95	ხულო, სოფ: ქვედაგანახლება	პომიდორი	2014
96	KheT96	ხელვაჩაური	პომიდორი	2015
97	KoP97	ქობულეთი, სოფ. გვარა	კარტოფილი	2015
98	AcP98	ახალციხე	კარტოფილი	2015
99	KePe99	ქედა	წიწაკა	2015
100	AkhP100	ახალქალაქი	კარტოფილი	2015
101	AkhP101	ახალციხე	კარტოფილი	2015

კვლევაში გამოყენებული, გენ ბანკში არსებული *Ralstonia solanacearum*- ის რეფერენტ შტამები

#	<i>Ralstonia solanacearum</i> რეფერენტ შტამები	მასპინძელი	გავრცელების ადგილი	Egl -გენის #	წელი
1	GMI1000**	პომიდორი	საფრანგეთი	EF192968	
2	NCPPB 4160	ბანანი	ინდონეზია	KC188087	2014
3	CFBP 4957	ბანანი	ინდონეზია	KC188093	2014
4	RS37	წყლის სარეველა	სამხრეთ ფლორიდა	EU836692	2014
5	RsRC-P3	ძალყურძენისე ბრთა ოჯახის ბოსტნეული მცენარეები	ინდოეთი	KM983297	2014
6	RsRC-P6	ძალყურძენისე ბრთა ოჯახის მცენარეები	ინდოეთი	KM983299	2014
7	CFBP 3059	ძალყურძენისე ბრთა ოჯახის მცენარეები	შვედეთი	KC188098	2012
8	CFBP 1415	ძალყურძენისე ბრთა ოჯახის მცენარეები	შვედეთი	KC188085	2012
9	CIP120	პმიდორი ,წიწაკა, ბადრიჯანი	საფრანგეთი	GQ907152	2011
10	CMR63	სხვადასხვა მასპინძელი	კამერონი	EF439760	2007
11	CFBP 4957	კარტოფილი	ურუგვაი	KC188093	2011
12	CFBP 4957	მცენარეები და სხვა წყეოები	პორტუგალია	KC188093	2012
13	Rs213	კარტოფილი	ბრაზილია	GU049838	2012
14	LMG 17144	მრავლფეროვანი საწყისი	ტაივანი	KC188070	2014
15	B13	ბანანი	ფლორიდა	KF889438	2014
16	RS37	წყლის სარეველა	ფლორიდა	EU836692	2008
17	Rd15	პომიდორი	ჩინეთი	EU407329	2014

18	B13	ზანანი	ბრაზილია	KF889438	2014
29	HAIP101	სხვადსხვა მასპინძელი	ტაივანი	AB508690	2014
20	la-Gy-05-01	ზადრიჯანი	ფილიპინები	KC441930	2007
21	CFBP 4957	სხვადსხვა მასპინძელი	ჩიკაგო	KC188093	2007
22	ISPave1323	პომიდორი	იტალია	FN555003	2009
23	R288	პომიდორი	იაპონია	GQ907153	2011
24	MAFF211266	პომიდორი	იაპონია	AF295250	
25	MAFF211475	ჯანჯაფილი	იაპონია	AY464994	2003
26	JT523	კარტოფილი	ისლანდია	AF295252	2000
27	CFBP765	პომიდორი	იაპონია	EF371810	2009
28	CFBP2972	კარტოფილი	მარტინქუა	AF295274	2000
29	Molk2	ზანანი	ფილიპინები	EF371841	2007
30	UW551**	ოთახის გერანი	ნიაკე	DQ657596	
31	CFBP2047	პომიდორი	აშშ	AF295262	2000
32	UW162	Plantain	პერუ	AF295256	2000
33	CFBP712	<i>Solanum melongena</i>	ბურკინა ფასო	AF295267	2000
34	CFBP3858	კარტოფილი	ნიდერლანდები	AF295259	2000
35	UW21	ზანანი	ჰონდურასი	DQ011546	2005
36	UW477	კარტოფილი	პერუ	AF295260	2000
37	CFBP2957**	პომიდორი	მქუარტინ	EF371807	2007
38	Po82**	კარტოფილი	მეხიკო	FJ561070	2008
39	ACH0158	კარტოფილი	აუსტრალია	EF647732	2009
40	NCPPB342	თამბაქო	ზიმბაბუე	AF295278	2000
41	CMR15	პომიდორი	კამერონი	JF702319	2012
42	NCPPB1018	კარტოფილი	ანგოლა	AF295271	2000
43	CFBP3059	ზადრიჯანი	ბურკინა ფასო	DQ657647	2007
44	NCPPB505	<i>Symphytium sp.</i>	ზიმბაბუე	AF295277	2000

45	JT525	<i>Pelagonim asperum</i>	ისლანდია	AF295272	2000
46	NCPPB332	კარტოფილი	ზიმბაბუე	AF295276	2000
47	NCPPB283	<i>Solanum panduriforme</i>	ზიმბაბუე	AF295275	2000
48	CFBP734	კარტოფილი	მადაგასკარი	AF295274	2000

საქართველოს სახვასახვა გეოდრაფიულ ზონაში *Ralstonia solanacearum* -
ის გავრცელება

ქობულეთის რაიონში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა

გავრცელების ადგილი	კარტოფილი	პომიდორი	წიწაკა	ბადრიჯანი	დეკორატიული მცენარეები	ჯამი
გვარა	$(5/6)*100 = 83,33 \pm 0,3$	$(4/10)*100 = 40 \pm 0,3$	$(0/2)*10 = 0=0$	$(0/1)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(9/19)*100 = 47,36 \pm 0,8$
ხუცუბანი	$(3/6)*100 = 50 \pm 1,4$	$(2/5)*100=40 \pm 1,5$	$(0/1)*10 = 0=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(5/12)*100 = 41,66 \pm 1$
ქობულეთი	$(10/14)*100 = 71,42 \pm 0,89$	$(4/6)*100 = 66,6 \pm 1,3$	$(2/6)*10 = 0 = 33,3 \pm 1,3$	$(1/6)*100 = 16,6 \pm 1$	$(2/10)*100 = 20 \pm 0,28$	$19/36*100 = 52,77 \pm 0,69$
ქობულეთის სასათბურე მეურნეობა	$(0/0)*100=0$	$(2/4)*100 = 50 \pm 0,5$	$(0/0)*10 = 0=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(2/4)*100 = 50 \pm 0,35$
ქობულეთის საცდელი ნაკვეთი	$(5/10)*100 = 50 \pm 0,3$	$(2/4)*100=50 \pm 0,5$	$(0/0)*10 = 0=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(7/14)*100 = 50 \pm 0,28$
ბობოყვათი	$(2/4)*100 = 50 \pm 0,5$	$(2/4)*100=50 \pm 0,5$	$(0/0)*10 = 0=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(4/8)*100 = 50$
ბათუმის ბოტანიკური ბაღი	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*10 = 0=0$	$(0/0)*100=0$	$(4/15)*100 = 26,6 \pm 0,8$	$(4/10)*100 = 40 \pm 0,3$
საერთო ჯამი	$(25/40)*100=62,5 \pm 0,5$	$(16/33)*100 = 48,48 \pm 0,6$	$(2/9)*10 = 0 = 22,2 \pm 0,9$	$(1/7)*100 = 14,2 \pm 0,9$	$(6/25)*100 = 24 \pm 0,6$	$(50/114)*100 = 43,85 \pm 0,32$

*დაავადების გავრცელების ინტენსივობა = (დადასტურებული იზოლატები/ შეგროვებული ნიმუშების საერთო რიცხვთან)

ზემო აჭარაში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელება

გავრცელების ადგილი	კარტოფილი	პომიდორი	წიწაკა	ბადრიჯანი	ჯამი
ტაბახმელა	$(8/15)*100 = 33,3\pm 0,8$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(8/15)*100 = 33,3\pm 0,86$
დიდ აჭარა	$(1/2)*100 = 50\pm 0,8$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(1/2)*100 = 50\pm 0,8$
ქედლები	$(0/0)*100 = 0$	$(2/4)*100 = 50\pm 0,5$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(2/4)*100 = 50\pm 0,5$
დეკანაძეები	$(0/0)*100 = 0$	$(1/2)*100 = 50\pm 0,8$	$(2/6)*100 = 33,3\pm 1,36$	$(0/0)*100 = 0$	$(3/8)*100 = 37,5\pm 1,2$
განახლება	$(0/0)*100 = 0$	$(2/4)*100 = 50\pm 0,5$	$(1/4)*100 = 25\pm 1,5$	$(0/0)*100 = 0$	$(3/8)*100 = 37,5\pm 1,2$
ქედა	$(2/6)*100 = 33,33\pm 1,3$	$(2/4)*100 = 50\pm 0,5$	$(1/4)*100 = 25\pm 1,5$	$(0/0)*100 = 0$	$(5/14)*100 = 35,7\pm 0,8$
ჯამი	$(11/23)*100 = 47,8\pm 0,73$	$(7/14)*100 = 50\pm 0,28$	$(4/14)*100 = 28,57\pm 0,8$	$(0/0)*100 = 0$	$(22/51)*100 = 43,13\pm 0,48$

*დაავადების გავრცელების ინტენსივობა = (დადასტურებული იზოლატები/შეგროვებული ნიმუშების საერთო რიცხვთან)*100

სამცხე -ჯავახეთში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა

გავრცელების ადგილი	კარტოფილი	პომიდორი	წიწაკა	ბადრიჯანი	ჯამი
ახალციხე	$(16/20)*100 = 80 \pm 0,6$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(16/20)*100 = 80 \pm 0,6$
ნინოწმინდა	$(4/15)*100 = 26,6 \pm 0,8$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$4/15)*100 = 26,6 \pm 0,8$
ახალქალაქი	$(15/20)*100 = 75 \pm 0,68$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(15/20)*100 = 75 \pm 0,68$
საერთო ჯამი	$(35/55)*100 = 63,6 \pm 0,45$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(35/55)*100 = 63,6 \pm 0,45$

*დაავადების გავრცელების ინტენსივობა = (დადასტურებული იზოლატები/შეგროვებული ნიმუშების საერთო რიცხვთან)*100

დასავლეთ საქართველოში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა

გავრცელების ადგილი	კარტოფილი	პომიდორი	წიწაკა	ბადრიჯანი	ჯამი
ქუთაისი	$(0/0)*100 = 0$	$(8/10)*100 = 80 \pm 0,89$	$(3/4)*100 = 75 \pm 1,5$	$(1/2)*100 = 50 \pm 0,8$	$(12/16)*100 = 75 \pm 0,76$
ჩხორუწყუ	$(0/0)*100 = 0$	$(6/8)*100 = 75 \pm 1$	$(1/4)*100 = 25 \pm 1,53$	$(0/0)*100 = 0$	$(7/12)*100 = 58,3 \pm 1$
ოზურგეთი ღია გრუნტი	$(0/0)*100 = 0$	$(5/10)*100 = 50 \pm 0,35$	$(4/10)*100 = 40 \pm 0,3$	$(0/0)*100 = 0$	$(9/20)*100 = 45$
ოზურგეთი სასათბურე მეურნეობა	$(0/0)*100 = 0$	$(2/4)*100 = 50 \pm 0,5$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(2/4)*100 = 50 \pm 0,5$
სამტრედია სასათბურე მეურნეობა	$(0/0)*100 = 0$	$(3/6)*100 = 50 \pm 0,44$	$(0/0)*100 = 0$	$(0/0)*100 = 0$	$(3/6)*100 = 50 \pm 0,44$
საერთო ჯამი	$(0/0)*100 = 0$	$(24/38)*100 = 63,15 \pm 0,54$	$(8/18)*100 = 44,44 \pm 0,8$	$(1/2)*100 = 50 \pm 0,8$	$(33/58)*100 = 56,9 \pm 0,44$

*დაავადების გავრცელების ინტენსივობა = (დადასტურებული იზოლატები/შეგროვებული ნიმუშების საერთო რიცხვთან)*100

შიდა ქართლში *Ralstonia solanacearum* -ის გავრცელების ინტენსივობა

გავრცელების ადგილი	კარტოფილი	პომიდორი	წიწაკა	ბადრიჯანი	დეკორატიული მცენარეები	ჯამი
წალვერი,საცდელი ნაკვეთი	$(3/15)*100=20\pm 0,7$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(3/15)*100=20\pm 0,7$
გორი რაიონი	$(4/15)*100=26,6\pm 0,8$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(4/15)*100=26,6\pm 0,8$
საერთო ჯამი	$(7/30)*100=23,33\pm 0,8$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(0/0)*100=0$	$(7/30)*100=23,33\pm 0,8$

*დაავადების გავრცელების ინტენსივობა = (დადასტურებული იზოლატები/შეგროვებული ნიმუშების საერთო რიცხვთან)*100

R. solanacearum-ის იზოლატების პათოგენურობის ცდის შედეგების

სტატისტიკური მონაცემები

R. solanacearum-ის იზოლატები	P value	Mean1	Mean2	Difference	SE of difference	t ratio	df
AcP1	0.116117	3.66667	3	0.666667	0.333333	2	4
AcP2	> 0.9999	4	4	0	0.57735	0	4
AcP5	0.78878	3.66667	3.5	0.166667	0.569275	0.29277	3
KhP7	0.373901	4	3.66667	0.333333	0.333333	1	4
AcP8	0.2302	2.66667	3.33333	-0.666667	0.471405	1.41421	4
KhP9	> 0.9999	2	2	0	0.57735	0	4
koP11	0.001324	4	1.33333	2.66667	0.333333	8	4
KhP10	0.066767	3.66667	2	1.66667	0.666667	2.5	4
KoP18	0.373901	3	3.33333	-0.333333	0.333333	1	4
KoT48	0.373901	2.66667	3	-0.333333	0.333333	1	4
KoT49	0.101192	2.33333	3.33333	-1	0.471405	2.12132	4
AcP55	0.158302	3	2	1	0.57735	1.73205	4
AcP58	0.518519	2.33333	1.66667	0.666667	0.942809	0.707107	4
AcP60	0.518519	3.66667	3.33333	0.333333	0.471405	0.707107	4
KoT63	0.116117	2.33333	3	-0.666667	0.333333	2	4
KoT64	0.518519	3.33333	3.66667	-0.333333	0.471405	0.707107	4
OzT67	0.373901	3.66667	4	-0.333333	0.333333	1	4
BBGstr.83	0.64333	2.33333	2	0.333333	0.666667	0.5	4
KhPe90	0.101192	2.33333	3.33333	-1	0.471405	2.12132	4

KuT26	> 0.9999	3.66667	3.66667	0	0.471405	0	4
ChkhT27	0.373901	3.33333	3	0.333333	0.333333	1	4
BBGstr.28	> 0.9999	2	2	0	0.57735	0	4
KhP32	0.101192	3.33333	2.33333	1	0.471405	2.12132	4
KhP33	0.2302	3.33333	2.66667	0.666667	0.471405	1.41421	4
KhP34	0.116117	3	3.66667	-0.666667	0.333333	2	4
Akc38	0.373901	3	2.33333	0.666667	0.666667	1	4
AcP41	> 0.9999	3	3	0	0.57735	0	4
NiP43	0.158302	3	2	1	0.57735	1.73205	4
KoT47	0.518519	3.33333	3.66667	-0.333333	0.471405	0.707107	4

R. solanacearum-ის ქართული იზოლატების *Egl* გენის ნუკლეოტიდური
თანმიმდევრობები

>AcP2-Akhaltsikhe, Potato, 2011

TGCTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTCC
GACACGGACACCACGACTCTGAAGCCCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCTC
ACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCCTATGGC
GCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTTC
TTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGGC
ACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCG
GGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAAC
AAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAAC
CAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGCG
ACCGGCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGATC
GGGTGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCAG
TTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGACC
GAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAGC
AACGTGGTGTCTGCCGGGGG

>AcP5_Akhaltsikhe, Potato, 2011

TGCTTGCCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGT
CCGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGC
TCACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCCTATG
GCGCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCT
TCTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGG
GCACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGC
CGGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGA
ACAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCA
ACCAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGG
CGACCGGCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGA
TCGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCC
AGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGA
CCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGA
GCAACGTGGTGTCTGCC

>KhP6_Khulo, Potato, 2011

GCTGCCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTCC
GACACGGACACCACGACTCTGAAGCCCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCTC
ACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCCTATGGC
GCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTTC
TTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGGC
ACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCG
GGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAAC
AAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAAC
CAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGCG
ACCGGCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGATC

GGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCAG
TTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCAACTCGATGCCGACC
GAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAGC
AACGTGGTGTCTGCCGGG

>KhP9_Khulo, Potato, 2011

GTGCTTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGT
CCGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGC
TCACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCCTATG
GCGCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGACCAGCACCT
TCTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGG
GCACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGC
CGGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGA
ACAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCA
ACCAGGTGTTTCGATGCCAACGAGCTGTCCGGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGG
CGACCGGCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGA
TCGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCC
AGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCAACTCGATGCCGA
CCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCCA
GCAACGTGGTGTCCCGG

>KoP18_Kobuleti, Potato, 2012

CTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTCCGA
CACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCTCAC
CATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCCTATGGCGC
CGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGACCAGCACCTTCTT
CGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGGCAC
GCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCGGG
CACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAACAA
GGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAACCA
GGTGTTCGATGCCAACGAGCTGTCCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGCGAC
CGGCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGATCGG
GTCCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCAGTT
CAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCAACTCGATGCCGACCGA
GCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAGCAA
CGTGGTGTCTGCCCG

>KoP19_Kobuleti, potato, 2012

ATGCTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTC
CGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCT
CACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCCTATGG
CGCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGACCAGCACCTT
CTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGG
CACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCC
GGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAA
CAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAA
CCAGGTGTTTCGATGCCAACGAGCTGTCCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGC
GACCGGCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGAT
CGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCA

GTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGAC
CGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAG

>KhP32_Khulo, potato, 2013

ATGCTTGCGGTTGCGGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGT
CCGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGC
TCACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATG
GCGCCGGCAGCACGTGGGTGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCT
TCTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGG
GCACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGC
CGGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTAACAAGA
ACAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCA
ACCAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGG
CGACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGA
TCGGGTTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGGCGCCTGGCCACCC
AGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGA
CCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGA
GCAACGTGGTGTCTGCCGGGGGA

>AvP57_Akhalsikhe, potato, 2014

CGTGCTTGCGGTTGCGGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCG
TCCGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGG
CTCACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTAT
GGCGCCGGCAGCACGTGGGTGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCAC
TTCTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACG
GGCACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTG
CCGGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTAACAAG
AACAAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTC
AACCAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACG
GCGACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTG
ATCGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGGCGCCTGGCCACC
CAGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCG
ACCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCG
AGCAAACGTGGTGTCTGCCAACGTGGTGTCTGCCGGGG

>AcP55_Akhalsikhe, Potato, 2014

TGATGCTTGCGGTTGCGGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGC
GTCCGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTG
GCTCACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTA
TGCGCGCCGGCAGCACGTGGGTGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCAC
CTTCTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTAC
GGGCACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCT
GCCGGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTAACA
GAACAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCT
CAACCAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGAC
GGCGACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGT
GATCGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGGCGCCTGGCCAC
CCAGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCC
GACCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGC

GAGCAACGTGTGTCCG

>OzT67_Ozurgeti, Tomato, 2014

GCTTGCCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTC
CGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCT
CACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATGG
CGCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTT
CTTCGGCAGGGACCCGGCGGCGGTGTCGCCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGG
CACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCC
GGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAA
CAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAA
CCAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGC
GACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACAACCTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGAT
CGGGTTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGGCCTGGCCACCCA
GTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGAC
CGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAG
CAACGTGTGTCT

>AcP79_Akhalsikhe, potato, 2014

ATGCTTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGT
CCGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGC
TCACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATG
GCGCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCT
TCTTCGGCAGGGACCCGGCGGCGGTGTCGCCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGG
GCACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGC
CGGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGA
ACAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCA
ACCAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGG
CGACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACAACCTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGA
TCGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGGCCTGGCCACCC
AGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGA
CCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGA
GCAACGTGTGTGCGGGG

>KhPe90_Khulo, Pepper, 2014

CTTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTCCG
ACACGGACACCACGACTCTGAAGCCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCTCA
CCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATGGCG
CCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTTCT
TCGGCAGGGACCCGGCGGCGGTGTCGCCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGGCA
CGCTGCTGTGGCGGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCGG
GCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAACA
AGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAACC
AGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGCGA
CCGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACAACCTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGATCG
GGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGGCCTGGCCACCCAGT
TCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGACCG
AGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAGCA

ACGTGGTGTCTGCCG

>KhT88_Khulo, Tomato, 2014

GTGCTTGC GGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGT
CCGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGC
TCACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATG
GCGCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCT
TCTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGG
GCACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGC
CGGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTA CTACAAGA
ACAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCA
ACCAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGG
CGACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGA
TCGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCC
AGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGA
CCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGA
GCAACGTGGTGTGGCC

>AcP81_Akhalsikhe, Potato, 2014

TTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTCCGA
CACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCTCAC
CATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATGGCGC
CGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTTCTT
CGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGGCAC
GCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCGGG
CACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTA CTACAAGAACAA
GGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAACCA
GGTGTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGCGAC
CGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGATCGG
GTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCAGTT
CAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGACCGA
GCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAGCAA
CGTGTGTCTGC

>KoT65_Kobuleti, Tomato, 2014

GTGCTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTC
CGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCT
CACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATGG
CGCCGGCAGCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTT
CTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGG
CACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCC
GGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTA CTACAAGAA
CAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAA
CCAGGTGTTTCGATGCGAACGAGCTGTCGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGC
GACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGAT
CGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCA
GTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGAC
CGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAG
CAACGTGGTGTCTGCGG

>AcP62_Akhalsikhe, Potato, 2014

TGTGCTTGC GGTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCG
TCCGACACGGACACCACGACTCTGAAGCCCGCCGACCTCGACGACCTCATCCGTGTGG
CTCACCATCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTAT
GGCGCCGGCAGCACGTGGGTGAAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCAC
TTCTTCGGCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACG
GGCACGCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTG
CCGGGCACCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAG
AACAAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGTGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTC
AACCAGGTGTTGATGCGAACGAGCTGTGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACG
GCGACCGGCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTG
ATCGGGTTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACC
CAGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCG
ACCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCG
AGCAACGTGGTGTCTGC

>AcP62_Akhalsikhe, Potato, 2014

CCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTCCGACA
CGGACACCACGACTCTGAAGCCCGCCGACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCTCACCA
TCGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATGGCGCCG
GCAGCACGTGGGTGAAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTTCTTCG
GCAGGGACCCGGCGGCCGGTGTGCGCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGGCACGC
TGCTGTGGCGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCGGGCA
CCTACGGCAGCAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAACAAGG
GCATGAACCTCGTGCGCCTGTGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAACCAGG
TGTTGATGCGAACGAGCTGTGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGCGACCG
GCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGATCGGGT
CGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCAGTTCA
AGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGACCGAGC
AGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAGCAACG
TGGTGTTCGTGCG

>KoT47_Kobulei_Tomato_2013

TCGCGGTTGCGGCGGCGGCGACGGTGACACCACCCTCAGCACGGCGGCGCCACCGACACCAC
GACCCTGAAGACGGCCGCCACCACCTCGATCTCGCCGTTGTGGCTCACCGTCGCCAAGGACAG
CGCGGCGTTCACGGTGAGCGGCACGCGCACGGTGCGCTATGGCGCCGGCAGCGCGTGGGTGG
CGAAGAGCATGTCCGGCACAGGCCAGTGCACCCGCCCTTCTTCGGTAAGGATCCGGCGGCGG
GTGTGCCAAGGTATGCCAGGTGGCGCAGGGCACGGGCACCCTGCTGTGGCGCGGCGTCAGCC
TGGCCGGCGCCGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCGGGCACCTACGGGAGCAACTACATCTATC
CGTCCGCCGACAGCGCGACCTACTACAAGAACAAGGGCATGAACCTCGTGCGCCTGCCGTTCC
GGTGGGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAACCAGGCGCTCGACGCGAACGAGCTGTGCGGCCTG
ACCGGGTTCGTCAACGCCGTGACGGCGGCGGCCAGACGGTGTGCTCGATCCGCACA ACTAC
GCGCGCTACTACGGCAACGTGATCGGCTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCGTACGCCGATTTCC
TGGCGGCGCGTGGCCACCCAGTTCAAGGGCAATGCCCGCGTCATCTTCGGGCTGATGAACGAG
CCCAATTGATGCCGACCGAGCAGTGGCTGTCCGGCGCCAACGCCGCGCTGGCCGCAATCCGC
TCGGCCAATGCGAGCAACGTGGTGTCTGCGGGGGCAACGC

>AkhP41_Akhalqalaqi_Potato_2013

TGCTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTCCGAC
ACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCTCACCATC
GCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATGGCGCCGGCAG
CACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTTCTTCGGCAGGG
ACCCGGCGGCGGTTGTCGCCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGGCACGCTGCTGTGGC
GCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCGGGCACCTACGGCAGC
AACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAACAAGGGCATGAACCTCGTG
CGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAACCAGGTGTTTCGATGCGAACGAG
CTGTGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGCGACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGAT
CCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGATCGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGCG
TACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCAGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGGGC
TGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGACCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCTGG
CCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAGCAACGTGTGTCCG

>KhP34_Khulo_Potato_2013

TGCTTGCGGTTGCGGCGGCGGTGACGGCGGTACCGCCAGCCTGAGCACGGCAAGCGCGTCCGA
CACGGACACCACGACTCTGAAGCCC GCCGCCACCTCGACGACCTCATCCGTGTGGCTCACCAT
CGCCAAGGACAGTGCCGCGTTTACGGTGAGCGGCACACGCACGGTGCGCTATGGCGCCGGCA
GCACGTGGGTGGAAAAGAGCGTGAGCGGTTCCGGCCAGTGCACCAGCACCTTCTTCGGCAGG
GACCCGGCGGCGGTTGTCGCCAAGGTGTGCCAACTGCTGCAGGGTACGGGCACGCTGCTGTGG
CGCGGCGTCAGCCTGGCCGGCGCGGAGTTCGGGGAGGGCAGCCTGCCGGGCACCTACGGCAG
CAACTACATCTATCCGTCCGCCGATAGCGCGACGTACTACAAGAACAAGGGCATGAACCTCGT
GCGCCTGTCGTTCCGGTGCGAGCGGCTGCAGCCCACGCTCAACCAGGTGTTTCGATGCGAACGA
GCTGTGCGCCTGACCGGGTTTGTCAACGCCGTGACGGCGACCGGCCAGACGGTGCTGCTCGA
TCCGCACA ACTATGCGCGCTACTACGGCAACGTGATCGGGTCGAGCGCGGTGCCAACAGCGC
GTACGCCGATTTCTGGCGGCGCCTGGCCACCCAGTTCAAGGGCAATCCCCGCGTCATCTTCGG
GCTGATGAACGAGCCCAACTCGATGCCGACCGAGCAGTGGCTGTCCGGTGCCAACGCCGCGCT
GGCCGCGATCCGCTCGGCCAATGCGAGCAACGTGTGTCCG