

სოკოვანი სახეობების იდენტიფიკაცია ალტერნარიით ინფიცირებულ  
მცენარეებში, პროტოკოლის ოპტიმიზაცია ტყის მიკობიომის  
შესასწავლად.

## მაკა ბასილიძე

სამაგისტრო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის  
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და მედიცინის ფაკულტეტზე მაგისტრის  
აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების შესაბამისად

ბუნების დაცვის და მეტყველობის სამაგისტრო პროგრამა

*სამეცნიერო ხელმძღვანელები: ეკატერინე თევდორაძე, ასოცირებული პროფესორი;  
ვლადიმერ ბარამიძე, საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის სრული პროფესორი.*

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი

თბილისი, 2026

## აბსტრაქტი

სოკოვანი პათოგენი *Alternaria spp.*, ფართოდ არის გავრცელებული და ხშირად იწვევს ფოთლის ლაქიანობას, ნერგების დაზიანებას და ზრდის შეფერხებას. მიუხედავად იმისა, რომ *Alternaria* იშვიათად არის ფართომასშტაბიანი ეპიდემიების გამომწვევი აგენტი, მას როგორც მეორად პათოგენს მნიშვნელოვნად შეუძლია გააძლიეროს დაავადების სიმძიმე, როგორც სატყეო, ასევე აგრონომიულ და დეკორატიულ კულტურებში.

სოკოვანი პათოგენების და მცენარესთან ასოცირებული მიკობიომის დროული დახასიათება საჭიროებს ახალი თაობის სექვენირების მეთოდების გამოყენებას, როგორცაა Oxford Nanopore Technology (ONT). რაც საშუალებას იძლევა ITS რიბოსომული ოპერონის წაკითხვით, გამოვლინდეს მცენარესთან ასოცირებული, როგორც პათოგენური, ასევე არაპათოგენური სოკოები. სოკოების იდენტიფიკაციას ხელს უწყობს საჯარო მონაცემთა ბაზები, მაგალითად FRODO (Fungal rDNA Operon Database for ONT-sequences), სადაც ხელმისაწვდომია ITS სექვენსების დიდი რაოდენობა.

კვლევის ფარგლებში *Alternaria spp.*-ის დეტექციისათვის ჩატარდა პჯრ ანალიზი. პჯრ ანალიზით დადასტურებული 8 დადებითი და 4 უარყოფითი ნიმუში დასექვენირდა Oxford Nanopore Technology (ONT)-ის გამოყენებით: 2 - ნეკერჩხლის (*Acer palmatum*), 2 - ტუიას (*Thuja occidentalis*), 2 - მანდარინისა (*Citrus reticulata*) და 2 - ყურძნის (*Vitis vinifera*). მოვახდინეთ, წინასწარ ბარკოდირებული ოლიგო-სექვენსებით ITS რიბოსომული ოპერონის ამპლიფიკაცია. ITS1-ITS2 ნანოპორ სექვენირების პროტოკოლის ოპტიმიზაცია და მიღებული შედეგების ბიონფორმატიკული ანალიზი.

სექვენირების შედეგად გამოვლინდა სოკოების მრავალფეროვანი ტაქსონომიური ჯგუფები, მათ შორის როგორც პათოგენური, ისე არაპათოგენური სახეობები. აღმოჩნდა, რომ *Alternaria spp.*-ის იდენტიფიკაცია შესაძლებელია მამინაც კი, როდესაც ის მიკობიომის დომინანტურ სახეობას არ წარმოადგენს. ჩვენს მიერ აღწერილი სოკოვანი სახეობები, რომლებიც ასოცირებულია ნეკერჩხალთან, ტუიასა და სხვა მცენარეულობასთან, წარმოადგენს პილოტურ კვლევას და აჩვენებს, რომ შესაძლებელია აღნიშნული მეთოდის პრაქტიკაში დანერგვა.

აღსანიშნავია, რომ კვლევის შედეგად აღვწერეთ ნეკერჩხალთან და ტუიასთან ასოცირებული მიკობიომი.

კვლევის შედეგები ადასტურებს, რომ ნანოპორ სექვენირება პერსპექტიული ინსტრუმენტია მიკობიომის კომპლექსური შესწავლისა და ნეკროტროფული პათოგენების ადრეული დიაგნოსტიკისთვის. ეს მნიშვნელოვანია ტყის ჯანმრთელობის მონიტორინგისთვის, დაავადებების მართვისა და აგროსფეროში მოსავლის დანაკარგების პრევენციისთვის.

## Abstract

The fungal pathogen *Alternaria spp.* is widely distributed and commonly causes leaf spot symptoms, seedling damage, and growth retardation. Although *Alternaria* rarely acts as the primary causal agent of large-scale epidemics, as a secondary pathogen, it can cause significant disease severity in forest, agronomic, and ornamental plants.

Oxford Nanopore sequencing (ONT) of the ITS ribosomal operon enables timely characterization of fungal pathogens and the plant-associated mycobiome. Fungal identification is further supported by publicly available reference databases, such as FRODO (Fungal rDNA Operon Database for ONT sequences), which contain extensive collections of sequences.

In this study, we have performed ONT Sequencing of *Alternaria spp.* qPCR-positive samples. These samples originated from maple (*Acer palmatum*, n = 4), thuja (*Thuja occidentalis*, n = 4), mandarin (*Citrus reticulata*, n = 2), and grapevine (*Vitis vinifera*, n = 2). The species level identification was done with amplification of the ITS ribosomal operon using pre-barcoded oligonucleotide primers. We have optimised the ITS1–ITS2 Nanopore sequencing protocol and bioinformatic analysis of the resulting sequencing data.

The results demonstrate that *Alternaria spp.* can be reliably identified even when it is not the dominant component of the mycobiome. The fungal taxa described here, associated with maple, thuja, and other plant species, represent a pilot study and clearly illustrate the feasibility and applicability of this approach in the broader research context.

Overall, the results confirm that Nanopore sequencing is a promising tool for comprehensive mycobiome analysis and for the early detection of fungal pathogens. This has important implications for forest health monitoring, disease management, and the prevention of yield losses in agricultural systems.