ფრინველთა სეზონური გადაადგილება კავკასიაში და მათი როლი ფრინველის გრიპის გავრცელებაში

ზურაბ ჯავახიშვილი

სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის
საბუნებისმეტყველო მეცნიერებებისა და საინჟინრო ფაკულტეტზე
სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების შესაბამისად

სიცოცხლის შემსწავლელ მეცნიერებათა
სადოქტორო პროგრამა

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: დავით თარხნიშვილი,
ბიოლ. მეცნ. დოქტორი, პროფესორი

ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტი
თბილისი, 2018

განაცხადი

როგორც წარმოდგენილი სადისერტაციო ნაშრომის - „ ფრინველთა სეზონური გადაადგილება კავკასიაში და მათი როლი ფრინველის გრიპის გავრცელებაში “ ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემს ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენიებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

ზურაბ ჯავახიშვილი
25/06/2018

მადლობა

სადოქტორო კვლევის პროცესში და თეზისის წერის პროცესში დახმარებისთვის მადლობას ვუხდი:
ჩემს ხელძღვანელს, დავით თარხნიშვილს პროექტის განხორციელებასა და თეზისის წერაში გაწეული დახმარებისათვის;
ქალბატონ ნიკოლა ლუისს სადოქტორო პროექტის განხორციელებაში, სტატიების წერაში, საველე საქმიანობაში, ფონდების მოძიებაში, ვირუსებზე მუშაობაში გაწეული დახმარებისათვის;
მარინე მურცხვალაძეს მოლეკულურ გენეტიკური კვლევებში დახმარებისათვის;
ლევან ნინუას, ჯიმშერ მამუჭაძეს, ნიკა პაპოშვილს, დავით დეკანოიძეს, ნიკა ქერდიყოშვილს, გაგიკ მარკოსიანს საველე კვლევებში გაწეული დახმარებისათვის;
ანა პაპკიაურს და ლევან ნინუას ვირუსების გენეტიკურ ანალიზში დახმარებისთვის.
თამარ ბერიძეს, ეთერ აბულიძეს, ლევან ნინუას, ანი მაჩაბლიშვილს, მზია ჩხეიძეს, მარინა დონდუაშვილს ლაბორატორიულ სამუშაოებში დახმარებისათვის;
ერასმუსის სამედიცინო ცენტრის, ვირუსოლოგიის დეპარტამენტის თანამშრომლებს და დიდი ბრიტანეთის ცხოველთა და მცენარეთა ჯანმრტელობის დაცვის ლაბორატორიის თანამშრომლებს, ვირუსის მთელი გენომის სექვენირებაში დახმარებისთვის;
ილიას სახელმწიფო უნივერსიტეტის, ეკოლოგიის ინსტიტუტის თანამშრომლებს გვერდში დგომისათვის.

სარჩევი

აბსტრაქტი ---------- 1

თავი 1. შესავალი ---------- 5

თავი 2. მასალა და მეთოდები ---------- 20

თავი 3. შედეგები ---------- 48

ქვეთავი 3.1 დიდი თეთრთავა თოლიის
სახეობათა კომპლექსის გადაადგილების შესწავლა
მოლეკულურ გენეტიკური მეთოდის გამოყენებით ---------- 48

ქვეთავი 3.2 გარეული იხვის მიგრაციის შესწავლა მოლეკულურ
გენეტიკური მეთოდების გამოყენებით ---------- 56

ქვეთავი 3.3. გარეულ ფრინველებში ფრინველის გრიპის
გავრცელების შესწავლა საქართველოში ---------- 63

ქვეთავი 3.4. საქართველოში იზოლირებული ფრინველის
გრიპის ვირუსის გენეტიკური კვლევა ---------- 80

თავი 4. დისკუსია ---------- 95

თავი 5. დასკვნები ---------- 107

ბიბლიოგრაფია ---------- 109

აბსტრაქტი

სადისერტაციო ნაშრომში განხილულია 2010 წლიდან 2017 წლამდე ჩატარებული კვლევის შედეგები. კვლევა განხორციელდა რამოდენიმე ნაწილად. ერთი ნაწილი მოიცავდა გარეულ ფრინველებში ფრინველის გრიპის გავრცელების შესწავლას. მეორე ნაწილი, მასპინძელი გარეული ფრინველების გადაადგილების და ეკოლოგიის როლის შესწავლას ფრინველის გრიპის შენარჩუნებასა და გავრცელებაში. კვლევის მიზნების მისაღწევათ ჩვენ ჩავატარეთ შემდეგი კვლევები:

- დიდი თეთრთავა თოლიების სახეობათა კომპლექსის (*Larus*) როგორც ფრინველის გრიპის ვირუსის მასპინძელის, მოზამთრე, მიგრანტი და მობუდარი პოპულაციების ურთიერთკავშირების და გადაადგილების შესწავლა მოლეკულურ გენეტიკური მეთოდების გამოყენებით;
- გარეული იხვის (*Anas platyrhunchos*) როგორც ფრინველის გრიპის ვირუსის მასპინძელის, მოზამთრე, მიგრანტი და მობუდარი პოპულაციების ურთიერთკავშირების და გადაადგილების შესწავლა მოლეკულურ გენეტიკური მეთოდების გამოყენებით;
- გარეულ ფრინველებში ფრინველის გრიპის ვირუსის გავრცელების და ეკოლოგიის შესწავლა;
- ფრინველის გრიპის ვირუსის გავრცელებაში, შენარჩუნებასა და დინამიკაში, გარეული ფრინველების როლის დადგენა.

განხორციელებული კვლევებით მივიღეთ შემდეგი შედეგები:

- შავი ზღვის პირეთში მოზამთრე დიდი თეთრთავა თოლიების დიდი ნაწილი მოფრინავს დასავლეთ და ცენტრალური აზიიდან (75%) და მხოლოდ მცირე ნაწილი დასავლეთ ევრაზიიდან (19%). მაშინ როდესაც ჯავახეთის ზეგანზე

მობუდარი სომხური თოლიები შავი ზღვის სანაპიროს გამოსაზამთრებლად თითქმის არ იყენებენ.

- შავი ზღვისპირეთში გარეული იხვის მოზამთრე პოპულაცია უმეტესწილად დასავლეთ ევრაზიის (ურალის ქედის დასავლეთით) მობუდარი პოპულაციებიდანაა. მტკვრის დაბლობზე მოზამთრე გარეულ იხვებში შეგვხვდა იხვები, რომლებიც მიტოქონდრიული დნმ-ს მიხედვით ნისკარტ-ხალიან იხვთან (*Anas poecilorhyncha*), რომელიც მხოლოდ უკიდურეს აღმოსავლეთ ნაწილში ბუდობს. ჯავახეთში მობუდარი გარეული იხვის პოპულაცია ბირთვული მარკერების მიხედვით აჩვენებს მცირე, მაგრამ სარწმუნო იზოლაციას შავი ზღვის პირეთში მოზამთრე იხვების პოპულაციასთან.
- ჩვენს მიერ აღებული 30 000 ვირუსის სინჯიში აღმოჩნდა 12 HA ქვეტიპის და 8 NA ქვეტიპის ვირუსი. გრიპით დასნებოვნების წილი სხვადასხვა პერიოდში და სახეობებში განსხვავდებოდა და 0.12% დან- 13.8% მდე მერყეობდა. ასევე საქართველოში გავრცელებული გრიპის ვირუსები გენეტიკურად ყველაზე მეტად დასავლეთ ევრაზიიდან გამოყოფილ ვირუსებს უჯგუფდებოდნენ, შემდეგ აღმოსავლეთ აზიაში მოცირკულირე ვირუსებს და ბოლოს ცენტრალურ აზიაში მოცირკულირე ვირუსებს. ასეთი სურათი ევრაზიაში გარეული ფრინველებში გრიპის სინჯების მოპოვების არათანაბარი ძალისხმევით უნდა იყოს გამოწვეული.
- საქართველოს ტერიტორიაზე ფრინველის გრიპის დინამიკას განაპირობებს მიგრანტი წყალმცურავი და წყალთანა ფრინველები.

Abstract

This PhD thesis is based on the research which was done during the year from 2010 to 2017. Research was performed in two sections: goal of the first section was to determine prevelnce of the Avian influenza virus (AIV) in wild birds of the region; and the goal of the secod part was to infer the movement and ecology of the host species of AIV, determine their role in the epidemiology of AIV in the region. To achive those goals we conducted following research:

- Molecular genetic inference of Great White-headed Gull species complex (*Larus*), to determine their movements, migration routes and breeding ecology;
- Molecular genetic inference of breeding, wintering and migratory populations of Mallard (*Anas plathyrhinchos)*, to determine its role in the spread and maintanence of AIV in the region.
- Inference of the AIV prevelance and ecology in wild birds in Georgia.
- Establishing the role of wild birds in the distribution, maintanence and dynamics.

After analysing data acquired from performed research following conclusions can be made:

- Large white-headed gull species wintering at the Black Sea cost are originated predominantly (75%) from Central and West Asia, smaller proportion (19%) belonges to the gull populations from Medditeranian basein and Central Europe. Whereas presence of Armenian Gulls breeding on Javakheti upland was minimal.
- Most of the Mallards wintering at the Black Sea cost are from West eurasian populations. In the wintering duck samples from the river Mtkvari lowland wintering ducks we had 2 samples which grpuped with Spot-billed duck (*Anas poecilorhyncha)* which dreeds only in Eastern Asia. There is small but significant isolation between the duck samples from Javakheti upland breeding and Black Sea cost wintering populations.
- Within the 30 000 samples collected during the study period we have found prevelace of the AIV was varing between 0.12 to 13.8 %. Prevelance depended on the species, waterbird lifecycle period and

waterbird density. During our study we have recorded 12 HA and 8 NA AIV subtypes. Most of our isolates were geneticly grouping with viruses isolated from East Atlantic Flyway. Second was East Asia Australian Flyway and last was central asian flyway. This picture might be because of sampling biase.

- Dynamics of the AIV on the wetlands of Georgia is defined mostly by migratory waterbirds but wintering birds maintain AIV.
- Dubling ducks and Gulls are defining AIV dynamics on the wetlands of Georgia.

თავი 1. შესავალი

ფრინველთა გადაადგილებები

ფრინველთა მიგრაცია ყოველთვის დიდ ინტერესს იწვევდა ადამიანებში. ძნელი იყო ფრინველთა მიგრაციის მასშტაბის წარმოდგენა სანამ არ მოხდა თანამედროვე ტექნოლოგიების განვითარება. ჯერ კიდევ 250 წლის წინ კარლ ლინე ემხრობოდა მოსაზრებას, რომ მერცხლები იზამთრებენ ტბების ფსკერზე ხოლო ტოროლები მიწის ნაპრალებში(Alerstam & Hedenstrom, 1998).

ფრენის უნარი შესაძლებლობას აძლევს ფრინველებს, რომ დროის მოკლე პერიოდში ეფექტურად გადაადგილდნენ დიდ დისტანციაზე. მათ შეუძლიათ მათთვის არასახარბიელო პირობების დადგომისას სწრაფად გადაფრინდნენ მათვის უფრო ხელსაყრელ გარემოში და ამ პროცესში გადალახონ ზღვები, უდაბნოები და სხვა არახელსაყრელი ტერიტორიები. ფრინველთა მიგრაციის ორ ძირითად ფორმას გამოყოფენ, ხოლო ფრინველთა გადაადგილების (მიგრაციის ჩათვლით) ექვს ტიპს (Newton, 2008):

1. **ყოველდღიური რუტინული გადაადგილება**. როდესაც ფრინველები გადაადგილდებიან მათი საბუდარი და საჯდომი ადგილიდან საკვების მოსაპოვებელ ტერიტორიებზე ან საკვების მოსაპოვებელი ერთი ტერიტორიიდან მეორეზე. ყოველდღიური რუტინული გადაადგილება შეიძლება ნებისმიერი მიმართულებით ხდებოდეს და ძრითადად შედარებით მოკლე მანძილებზე. ეს გადაადგილებები ძირითადად ფრინველების საბინადრო სივრცეში ხდება. ასეთი გადაადგილების მაგალითად შეიძლება მოვიყვანოთ ბატკანძერის (*Gypaetus barbatus*) ყოველდღიური გადაადგილება ყაზბეგის ტერიტორიაზე. ეს ფრინველი ყოველდღიურად დიდ მანძილებს ფარავს საკვების მოსაპოვებლად (Abuladze, 1998; Gavashelishvili & McGrady,2007). ჩვენ შევისწავლეთ

კავკასიური როჭოს გადაადგილება აღმოსავლეთ დიდ კავკასიონზე და მესხეთის ქედზე რადიო ტელემეტრიის მეშვეობით. ეს სახეობა მთელი წლის განმავლობაში რჩება ერთი და იგივე ტერიტორიაზე და მხოლოდ დღიური გადაადგილება ახასიათებს. ზამთრის პერიოდში მათი საბინადრო ტერიტორია ძალზე მცირედ იცვლება. დიდ კავკასიონზე ფრინველები ღამეს ატარებენ ჩრდილოეთის ფერდობებზე სადაც თოვლი უფრო ფხვიერი რჩება დაბალი ტემპერატურის გამო. საკვებად იყენებენ ტყის ზედა სარტყელში მზარდი არყის (*Betula sp.*) კვირტებს. გაზაფხულზე როჭოები გასამრავლებელი ტიხტიხის ადგილებისკენ ინაცვლებენ რომელიც დიდ კავკასიონზე ძირითადად აღმოსავლეთ და სამხრეთ ფერდობებზეა ხოლო მესხეთის ქედზე იმავე ცღდილოეთ ფერდობებზე. ჩვენი კვლევის დროს, კავკასიური როჭოს გადაადგილების უმეტესობა სწორედ ყოველდღიური რუტინული სახის იყო და დიდ მანძილზე გადაადგილება არ შეიმჩნეოდა (Gavashelishvili & Javakhishvili, 2010).

2. **დისპერსიული გადაადგილება (პოსტ-ნატალური გადაადგილება)**. ფრინველთა სახეობების უმეტესობაში, ბარტყები ბუდიდან გამოფრენის შემდეგ ახდენენ დისპერსიულ გადაადგილებებს. ახალგაზრდა ფრინველები შეიძლება გავრცელდნენ, მათი ბუდიდან, ნებისმიერი მიმართულებით. კონკრეტულ ახალგაზრდა ფრინველებს არ ახასიათებთ გენეტიკურად დეტერმინირებული გავრცელების მიმართულება, ამიტომ მათი გავრცელება ხდება შემთხვევითი მიმართულებით. უმეტესობა შემთხვევებში ახალგაზრდა ფრინველები აღარ უბრუნდებიან მათი გამოჩეკვის ადგილს. ზოგიერთი ბეღურასნაირი ფრინველის დისპერსიული გადაადგილება შეიძლება მხოლოდ რამოდენიმე კილომეტრი იყოს ხოლო დიდი ზომის ძღვის ფრინველების ასეულობით კილომეტრი. კავკასიაში გამოჩეკილი სვავები (*Aegypius monachus*) ბუდიდან გამოფრენის შემდეგ გარკვეული პერიოდი არ შორდებიან ბუდეს თუმცა ზაფხულის ბოლოს ტოვებენ გამოჩეკვის ტერიტორიას იწყებენ დისპერსიას. პირველი 3-4 წლის განმავლობაში

ისინი გადაადგილდებიან კავკასიასა და წინა აზიაში დიდ ტერიტორიაზე. საქართველოში დანიშნული ფრინველები საუდის არაბეთსა და ირანში გვხვდებიან (Abuladze et al, 1996; Gavashelishvili et al, 2012).

3. **მიგრაცია**. როდესაც ფრინველები ანხორციელებენ ყოველწლიურ, რეგულარულ სეზონურ გადაადგილებას, საბუდარ და გამოსაზამთრებელ ადგილებს შორის, რომელსაც იწყებენ დაახლოებით ერთიდაიგივე დროს და მიმდინარეობს დაახლოებით ერთიდაიგივე პერიოდი. სხვა გადაადგილებებისაგან განსხვავებით მიგრაციის დროს ფრინველები ფარავენ დიდ მანძილს (რამოდენიმე ასეულიდან რამოდენიმე ათასეულ კილომეტრამდე) მკვეთრად განსაზღვრული მიმართულებით. ფრინველთა მიგრაცია ასოცირებულია საკვების მისაწვდომობის სეზონურ ცვლილებასთან გასამრავლებელ ტერიტორიაზე და მიმდინარეობს მაღალი განედებიდან დაბალი განედებისაკენ. საქართველოს ტერიტორიაზე მტაცებელი ფრინველების სამიგრაციო მარშრუტზე მილიონი მტაცებელი ფრინველი გადაიფრენს და გამოსაზამთრებელ ტერიტორიას მიაშურებს (Abuladze, 2016)

ა) **ობლიგატორული მიგრაცია**

ობლიგატორული მიგრაციაა როდესაც ფრინველები ტოვებენ საბუდარ ტერიტორიას ზამთრის (საკვებზე მისაწვდომობის შეზღუდვის) დადგომამდე, ყოველწლიურად დაახლოებით ერთიდაიგივე დროს, გამოსაზამთრებელ ტერიტორიამდე გადაადგილდებიან ერთი და იგივე მარშრუტით, მათი საბუდარი და საზამთრო ადგილები წოველწლიურად არის იგივე, უმეტესობა შემთხვევებში გადაადგილება ხდება დიდ მანძილზე და უმეტეს სახეობებში გენეტიკურადაა განპირობებული. ობლიგატორული მიგრანტების უმეტესობა ბუდობს ჩრდილოეთ ნახევარსფეროში და მიგრირებს ჩრდილოეთ ევრაზიიდან აფრიკისკენ და სამხრეთ აზიისკენ ან ჩრდილოეთ ამერიკიდან სამხრეთ ამერიკისკენ (Newton, 2011).

ბ) **ფაკულტატური მიგრაცია.**

ფაკულტატური მ იგრაციაა, როდესაც ფრინველების გადაადგილება რეაქციაა სკავების რაოდენობის და ხელმისაწვდომობის შემცირებაზე. ამ დროს ფრინველები გადაადგილდებიან ისეთ ტერიტორიაზე სადაც საკვები ისევ ხელმისაწვდომია და რჩებიან იქ სანამ ეს პირობა ნარჩუნდება. აქედან გამომდინარე მათი გამოსაზამთრებელი ადგილები, გადაადგილების დაწყების დროები და სამიგრაციო მარშრუტები შეიძლება იყოს განსხვავებული სხვადასხვა წლებში. შესასვენებელ ადგილებზე შეჩერების დროც და ზამთრობის ხანგრძლივობაც ასევე შესაძლებელია იყოს ვარიაბელური. ასეთ სახეობებში მიგრაციას გენეტიკური კომპონენტი როგორც წესი არ გააჩნია(Newton, 2011).

4. **დისპერსიული გადაადგილება**. როდესაც ფრინველები იწყებენ სეზონურ გადაადგილებას ბუდობის დამთავრების შემდეგ ნებისმიერი მიმართულებით(როგორც დისპერსიული გადაადგილების დროს), თუმცა უბრუნდებიან გამრავლების ადგილებს ბუდობის სეზონის დადგომისას (როგორც მიგრაციის დროს). ამ ტიპის გადაადგილება უფრო მეტად ახასიათებთ მობინადრე (სახეობა რომელიც არ მიგრირებს) ფრინველებს. ისინი სეზონურად შეიძლება ინაცვლებდნენ მთებიდან დაბლობებში ან საბუდარი ადგილებიდან საკვებით უფრო მდიდარ ტერიტორიაზე. დისპერსიული გადაადგილების კარგი მაგალითია ატლანტური პუფინი (*Fratercula arctica*). რომელტა პოპულაციას არ გააჩნია ერთი კონკრეტული გამოსაზამთრებელი ტერიტორია. ისინი წლების და და ინდივიდების მიხედვით იცვლება. ინდივიდები იგივე მობუდარი პოპულაციიდან გამოსაზამთრებლად მიფრინავენ აბსოლიტურად განსხვავებული მიმართულებით, გაზაფხულზე კი ყველა მათგანი უკან იგივე საბუდარ ტერიტორიაზე ბრუნდება (Guilford et al, 2011).

5. **ინვაზიური გადაადგილება**. ამ ტიპის გადაადგილების დროს ფრინველები ახდენე სეზონურ მიგრაციას, როგორც ჩვეულებრივი მიგრაციის დროს. მიმართულება, დისტანცია და გამოსაზამთრებელი

ტერიტორია არის მსგავსი, თუმცა მიგრაციის პერიოდულობა არ არის ყოველსეზონური და დამოკიდებულია საბუდარ ტერიტორიაზე საკვების წლიურ ან სეზონურ მისაწვდომობაზე. კარგი მაგალითია ზოგიერთი ჩრდილოეთის მცენარის ნაყოფით მკვებავი სახეობა რომელთა ინვაზიური მიგრაცია დამოკიდებულია მათი საკვები მცენარის მოსავლიანობაზე კონკრეთულ წელს, ან კიდევ ჩრდილოეთის ბუების ზოგიერთი სახეობა რომელის მთავარი საკვებია მღრღნელები, რომლებსაც მკვეთრი პოპულაციური ტალღები ახასიათებთ. საქართველოს ტერიტორიაზე მედუდუკე (*Bombycilla garrulus*) არარეგულარულად ზამთრობს. არის წლები, როდესაც ეს ფრინველი საკმაოდ მრავალრიცხოვანია ზამთრობისას, ხოლო ზოგიერთ წლებში ის ზამთრობისას საერთოდ არ გვხვდება საქართველოში (Abuladze, 2016). ის თუ რომელ წელს მოახდენს მედუდუკე მიგრაციას დამოკიდებულია ჩრდილოეთის საბუდარ ტერიტორიებზე საკვების (წიწოვნების გირჩი) მოსავლიანობაზე (Koenig&Knops, 2001).

6. **ნომადიზმი**. როდესაც ფრინველები გადაადგილდებიან ერთი ტერიტორიიდან მეორეზე საკვების მისაწვდომობიდან და რაოდენობიდან გამომდინარე და მრავლდებიან თუ ეს შესაძლებელია. ხელსაყრელი, საკვებით მდიდარი ტერიტორიები შეიძლება იყოს ერთმანეთისაგან განსხვავებული მიმართულებით და დისტანციით დაშორებული და გამოიყენებოდეს არარეგულარულად. ასეთი გადაადგილება ახასითებთ ტუნდრის ზოგიერთ მტაცებელს, სადაც მღრღნელების პოპულაციების დინამიკა განაპირობებს ამა თუ იმ ადგილზე საკვების რაოდენობას. ასევე უდაბნოებში და ნახევარუდაბნოებში მცხოვრებ ფრინველებს, სადაც არარეგულარული და სპორადული ნალექიანობა განაპირობებს საკვების რაოდენობას და მისაწვდომობას. საქართველოს ორნითოფაუნაში ნომადიზმის ყველაზე კარგი მაგალითია ტარბი (*Sturnus roseus*). ეს სახეობა დიდ გუნდებად გადაადგილდება და საკვების სიუხვის შემთხვევაში არჩევს ტერიტორიას და იწყებს ბუდობას კოლონიურად. იმ შემთხვევაში

თუ ტერიტორიაზე საკვიბი მწირია ტარბები იქ არ ბუდობენ და აგრძელებენ გადაადგილებას საკვებით მდიდარი ტერიტორიებისაკენ (პირადი დაკვირვება).

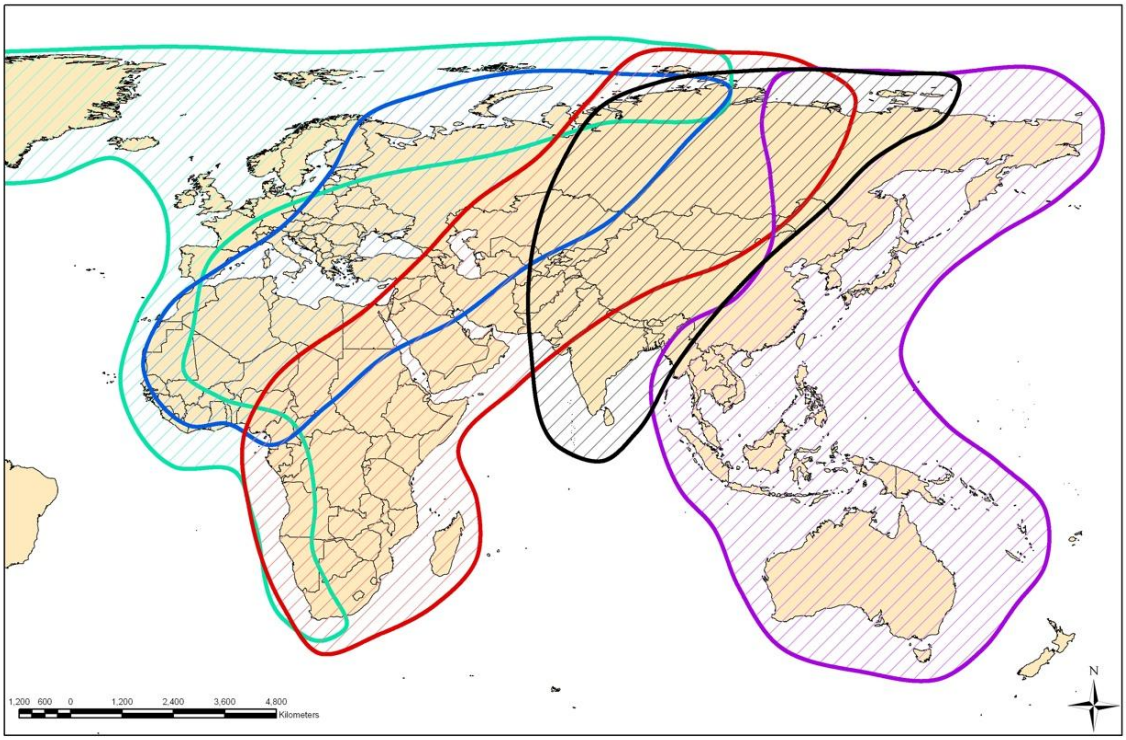
წყალმცურავ და წყალთანა ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტები ევრაზიაში

წყალმცურავ ფრინველთა მიგრაციების შესწავლა მე 20 ე საუკუნის დასაწყისში დაიწყო. პირველად 1930იან წლებში, ამერიკის შეერთებულ შტატებში, გამოყვეს წყალმცურავ ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტები რაც საფუძვლად დაედო წყალმცურავთა პოპულაციების სამენეჯმენტო სისტემას (Lincoln 1950).

ევრაზიაში წყალმცურავ ფრინველთა მიგრაციების სისტემატური ანალიზი დარგოლილ ფრინველთა გადაადგილებაზე დაკვირვების შედეგად მიღებული მონაცემების საფუძველზე დაიწყო 1960იან წლებში. ერთ–ერთი პირველი შემაჯამებელი შრომა რუს ორნითოლოგ ისაკოვს ეკუთვნის (Isakov 1967). ამას მოჰყვა ასევე რუსი ორნითოლოგის შევარევას (Shevareva 1970) ნაშრომი, რომელიც დარგოლილი გარეული იხვის, სტვენია იხვის, კუდსადგისა იხვის, თეთრშუბლა იხვის და იხვინჯას დაბრუნებული 10 600 რგოლის ანალიზს ეფუძნებოდა. ისაკოვმა დასავლეთ ევრაზიაში გამოყო წყალმცურავ ფრინველთა 4 ძირითადი სამიგრაციო მარშრუტი რუკა#1, რაც შევარევას დაბრუნებული რგოლების ანალიზმა გაამყარა.

რუკა 1. ისაკოვის მიერ 1967 წელს გამოყოფილი წყალმცურავთა პოპულაციები და მათი სამიგრაციო მარშრუტები. 1–ჩრდილოეთ თეთრი ზღვა/ ჩრდილოეთის ზღვის; 2 – ევროპული ციმბირი/შავი ზღვა/ხმელთაშუა ზღვის; 3 – დასავლეთ ციმბირი/კასპიის ზღვა/ნილოსის; და 4 – ციმბირის/ყაზახეთის/ინდოეთის (Boere & Stroud, 2006).

მიგრანტ ფრინველთა შესწავლა ძირითადად ფრინველთა დარგოლვის მეშვეობით ხორციელდებოდა, თუმცა მეოცე საუკუნის მეორე ნახევარში კვლევებისათვის ხელმისაწვდომი გახდა ისეთი ტექნოლოგიები როგორიცაა: ამინდის დოპლერის რადარები (Dokter et al, 2010), ფრთის ქიმიური ანალიზი დეიტერიუმის რაოდენობის შესასწავლად (Hobson et al, 2004), რადიო და სატელიტური გადამცემები (Gavashelishvili&Javakhishvili, 2010. Gavashelishvili et al, 2012), მოლეკულურ გენეტიკური მეთოდები (Wink, 2006). ამ ტექნოლოგიების გამოყენებით უფრო მეტი სახეობის კვლევა ტარდება, რამაც მეტი ნათელი მოჰფინა ფრინველთა გლობალურ მიგრაციას. არსებულ კვლევებზე დაყრდნობით შეიმუშავეს ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტების რუკა (Boere et. al., 2006)(რუკა 2).



რუკა 2. წყლის ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტები ევრაზიაში (Wetland Int. Boere et. al., 2006 მიხედვით). აღმოსავლეთ ატლანტური - მწვანე, შავი და ხმელთაშუაზღვის -ლურჯი, აღმოსავლეთ აფრიკა დასავლეთ აზიის - წითელი, ცენტრალური აზიის - შავი, აღმოსავლეთ აზია ავსტრალიის - იასამნისფერი.

რა არის ფრინველის გრიპის ვირუსი, რა ზარალი მოაქვს მას გლობალურად და რა როლი აქვთ გარეულ ფრინველებს ფრინველის გრიპის გავრცელებასა და ევოლუციაში

ფრინველები არიან ყველაზე მობილური ორგანიზმები დედამიწაზე. ფრენის უნარის გამო მათ შეუძლიათ დროის მოკლე მონაკვეთში დაფაროონ დიდი დისტანცია და დედამიწის ნებისმიერ წერტილში მოხვდნენ. სწორედ ამის გამო ფრინველები წარმოადგენენ ყველაზე სწრაფ და ეფექტურ ვექტორს სხვადასხვა დაავადებების (ვირუსები, ბაქტერიები, მაკრო-პარაზიტები) გავრცელებისათვის(Gunnarsson et al., 2012) ფრინველების მიგრაცია არის სწორედ ის მოვლენა, რომელსაც შეუძლია მნიშვნელოვანი როლი ითამაშოს პათოგენების გავრცელებაში მთელს დედამიწაზე. მაღალპათოგენური გრიპის ვირუსის H5N1 გავრცელება აზიიდან ევროპასა და აფრიკაში ამის კარგი მაგალითია (Verhagen, 2016). პათოგენების გადაცემა და გეოგრაფიული გავრცელება მჭიდრო კავშირშია მასპინძელი სახეობის ეკოლოგიასა და მიგრაციასთან.
ფრინველებში ფრინველის გრიპის ვირუსის ეკოლოგია განპირობებულია ისეთი ვირუსული თავისებურებებით როგორიცაა უჯრედის რეცეპტორების გამოყენება, ქსოვილების ტროპიზმი, გამრავლების და მასპინძელის იმუნური სისტემის დაძლევის შესაძლებლობა; ასევე განპირობებულია მასპინძელის ისეთი თვისებებით როგორიცაა: სახეობა, ვირუს სპეციფიური რეცეპტორების რაოდენობით და განაწილებით, მასპინძელის უჯრედის ტრანსკრიპციის და ტრანსლაციის მექანიზმებით და იმუნური სისტემის უნარით მოახდინოს ვირუსების სწრაფი ამოცნობა (Roy and Kirchner 2000),
ასევე ვირუსის ეკოლოგია განპირობებულია მასპინძელი სახეობის ფრინველის ქცევაზე, საკვების მოპოვების თავისებურებაზე, საცხოვრებელი გარემოს გამოყენებაზე, პოპულაციის ზომაზე და სიმჭიდროვეზე, ჯგუფების ზომაზე, მიგრაციის ტიპზე და სტილზე, ასევე

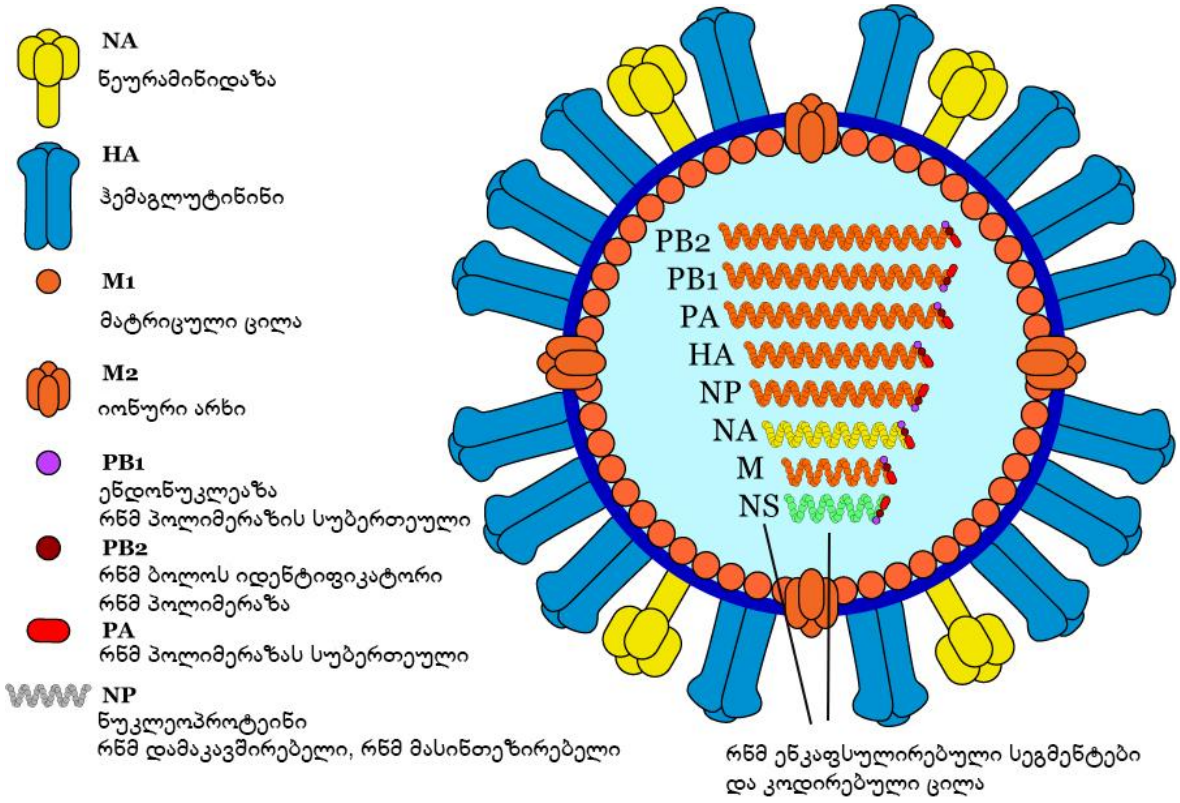
ბიოტური და აბიოტური ფაქტორებზე რომლებიც გავლენას ახდენენ ვირუსების გადარჩენაზე გარემოში (Schmid Hempel, 2011).
უმეტესობა ფრინველის პათოგენის ეკოლოგია მწირად არის შესწავლილი ან შესწავლილია მხოლოდ შინაურ ფრინველში (Wille et al., 2017).
ფრინველის გრიპის მაღალპათოგენური ფორმის გამოჩენა და შემდგომში მისი გავრცელება ევროპასა და აფრიკაში მნიშვნელოვანი აღმოჩნდა ფრინველის, როგორგ ვექტორის როლის შესწავლის გაძლიერებისათვის (van Dijk, 2014)
ადამიანის ინფექციურ დაავადებათა 2/3 არის განპირობებული ზოონოტური პათოგენებით (Taylor et al. 2001, Jones et al. 2008).
უმრავლესობა ამ დაავადებებისა მოდის გარეული ცხოველებიდან და მათი რიცხვი დროთა განმავლობაში იმატებს (King et al. 2006, Jones et al. 2008).
კარგად ცნობლი მაგალითებია: ადამიანის იმუნოდეფიციტის სინდრომი HIV/AIDS, მწვავე რესპირატორული სინდრომი (SARS), ებოლას ჰემორარგიული ცხელება,ფრინველის გრიპი H5N1. ყველა მათგანი აღმოცენდა გარეულ ცხოველებში (პრიმატები, ღამურები, ფრინველები) და გადაეცა ადამიანებს პირდაპირ ან არაპირდაპირ შინაური ცხოველების გავლით (Morens & Fauci 2013).
ამჟამად აღმოცენებადი ინფექციური დაავადებებია წინა აზიური რესპირატორული სინდრომი MERS-CoV ფრინველის გრიპი H7N9. ორივე დაავადება არის მაღალპათოგენური ადამიანებისათვის და იწვევს დაავადებულთა 1/3 სიკვდილს (Kreijtz et al. 2013, van Dijk, 2014).
უმრავლესობა ზოონოტური დაავადებებისა იწვევს როგორც ცხოველის ასევე ადამიანის დაავადებას და ზოგჯერ სიკვდილსაც. იშვიათი გამონალკისია H7N9 ფრინველის გრიპის ვირუსი, რომელიც მაღალპათოგენურია ადამიანებში მაგრამ არ იწვევს კლინიკურ ნიშნებს გარეულ და შინაურ ფრინველებში (Kreijtz et al. 2013).
ახლად წარმოშობილმა ზოონოტურმა დაავადებამ შეიძლება სერიოზული საფრთხე შეუქმნას ადამიანებს, განსაკუთრებით როცა ის სიმპტომების

გარეშე მიმდინარეობს რეზერვუარ სახეობაში (როგორც H7N9). ინფექციური დაავადებები არის ყველაზე მნიშვნელოვანი პრობლემა ადამიანებისათვის. ყოველწლიურად მილიარდამდე ადამიანი ავადდება ინფექციური დაავადებებით ხოლო რამოდენიმე ასეული მილიონი ადამიანი კი კვდება (Karesh et al. 2012).
მკვლევარები თანხმდებიან, რომ ახლად აღმოცენებადი ზოონოტური დაავადებების უკეთესი კონტროლისა და მართვისათვის უმნიშვნელოვანესია მათი რეზერვუარი გარეული ცხოველების სახეობების ეკოლოგიის და ეპიდემიოლოგიის კარგად ცოდნა (Kuiken et al. 2005, Coker et al. 2011).

ფრინველის გრიპის ვირუსი

ფრინველის A ტიპის გრიპის ვირუსი არის Orthomyxoviridae ოჯახის, გარსიანი რნმ ვირუსი. ვირუსის ნაწილაკი პეომორფულია დაახლოებით 120NM დიამეტრის. A ტიპის გრიპის ვირუსების კლასიფიკაცია ხდება ვირუსის ზედაპირული გლიკოპროტეინების, ჰემაგლუტინინის (HA) და ნეურამინიდაზას (NA) მიხედვით. ეს გლიკოპროტეინები განაპირობებენ ვირუსის მასპინძელ უჯრედში შეღწევის და უჯრედიდან გამოსვლის უნარს. ფრინველებში გვხვდება A ტიპის გრიპის ვირუსის 16 განსხვავებული HA და 9 NA ვარიაცია, რომლებსაც შეუძლიათ წარმოქმნან მრავალი კომბინაცია რომლებსაც ქვეტიპებსაც უწოდებენ (Fouchier et al. 2005, Wright & Webster 2001). გარდა გარეულ ფრინველებში ნაპოვნი ქვეტიპებისა, ნაპოვნია H17N10 და H18N11 ქვეტიპები რომელიც მხოლოდ ხილის ღამურებში გვხვდება(Tong, S., et al. 2012, 2013). A ტიპის გრიპის ვირუსის გენომი არის უარყოფითი, ერთ-ჯაჭვიანი რნმ მოლეკულა, რომელიც 8 გენური სეგმენტით არის წარმოდგენილი. გენომი აკოდირებს 11 განსხვავებულ პროტეინს (სურათი 1) (Lamb & Krug, 2001). ვირუსული პროტეინები მნიშვნელოვანია ვირუსის მასპინძელ უჯრედზე მიმაგრების და შერწყმის, ვირუსის ტრანსკრიფციის,

რეპლიკაციისშიდაუჯრედული ტრანსპორტირების, ვირუსის აწყობის და სტრუქტურირების, მასპინძელი უჯრედიდან გამოსვლისათვის. სეგმენტირებული გენომის არსებობა განაპირობებს ვირუსის უნარს განიცადოს ევოლუცია ორ ვირუსს შორის სეგმენტების მიმოცვლის (რეასორტმენტის) გზით (Webster et al. 1992)

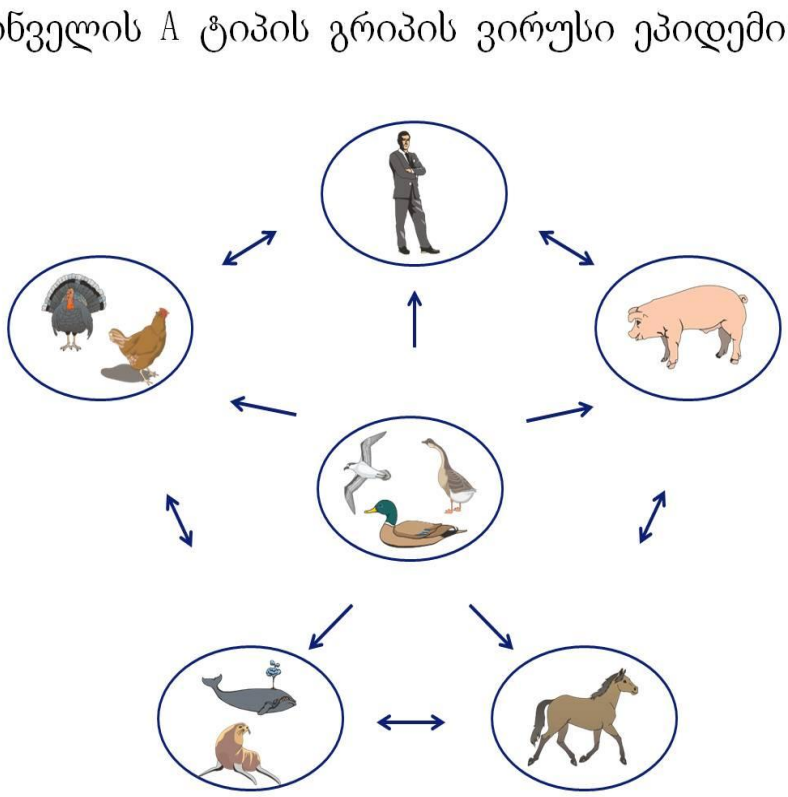


სქემა აღებულია: www.virologydownunder.blogspot.com

სურათი 1. ფრინველის ა ტიპის გრიპის ვირუსის აგებულება

A ტიპის გრიპის ვირუსი ცნობილია როგორც ერთ-ერთი ყველაზე პანდემიური ვირუსი. სეზონური გრიპის H3N2 ვირუსი რომელიც ყოველწლიურად იწვევს ასიათასობით ადამიანის სიკვდილს, 1918 წლის H1N1 ესპანური გრიპის სახელით ცნობილი პანდემია, 2009 წლის H1N1 ქვეტიპის ღორის გრიპის ვირუსის სახელით ცნობილი, ფრინველის მაღალპათოგენური გრიპის სახელით ცნობილი HPAI H5N1 არის ნათელი მაგალითები A ტიპის გრიპის პანდემიური პოტენციალის (Webster et al. 1992). ყველა ზემოთხსენებული პანდემიური გრიპის ვირუსი მოდის

გარეულ ფრინველებში მოცირკულირე A ტიპის გრიპის ვირუსებიდან. გარდა ადამიანების დაინფიცირებისა A ტიპის გრიპის ვირუსები ასევე იზოლირებულია სხვა სახეობის ძუძუმწოვრებიდანაც ღორიდან, ცხენიდან, ქრცვინიდან, ძაღლიდან, კატიდან, ზღვის ძუძუმწოვრებიდან და ღამურებიდან. ვირუსი იზოლირებულია ასევე თითქმის ყველა სახეობის შინაური ფრინველიდან (Webster et al. 1992, Tong, S., et al. 2012, 2013). თუმცაღა, გარეული მიგრირებადი წყალმცურავი ფრინველები არიან რეზერვუარი უმეტესობა A ტიპის გრიპის ვირუსების ბუნებაში (სურათი 2).



სურათი 2. ფრინველის გრიპის ვირუსის ეპიდემიოლოგია. გარეული ფრინველები არიან უმეტესობა ფრინველის A ტიპის გრიპის ვირუსის რეზერვუარი.

საკვლევი თემა

კვლევები საქართველოში ფრინველთა გადაადგილებების შესახებ მწირია. არსებული კვლევები ეხება კავკასიური როჭოს (Gavashelishvili & Javakhishvili, 2010), სვავის (Abuladze et al, 1995; Gavashelishvili et al, 2012.), ბატკანძერის (Abuladze, 1998; Gavashelishvili & McGready, 2007), ორბის (Abuladze, 2004; Gavashelishvili & McGready, 2007), ფასკუნჯის (Abuladze, 1998), ბექობის არწივის (Abuladze, 1996; ჯავახიშვილი, 2017) და რუხი წეროს (Abuladze pers com., 2017), წეროტურფას (Abuladze, 1995) გადაადგილების შესწავლის შედეგებს. ამავდროულად, წყალმცურავი ფრინველები და თოლიები არიან ფრინველის გრიპის ძირითადი რეზერვუარები და ვექტორები ხოლო სხვა ჯგუფის ფრინველები მხოლოდ მეორად მასპინძელს წარმოადგენს. საქართველოს ტერიტორიაზე, წყალმცურავი ფრინველების და თოლიების გადაადგილებაზე ცოტა კვლევაა ჩატარებული (Abuladze, 1994; Abuladze, 1998; Abuladze, 2016;). ასევე, ჩემი კვლევების გარდა, არ არსებობს ინფორმაცია კავკასიაში წყალმცურავი ფრინველებში ფრინველის გრიპის გავრცელებაზე და მიგრანტი ფრნველების როლზე გრიპის გადატანაში. აქედან გამომდინარე ჩვენი კვლევის მიზანი იყო: 1) შავი ზღვის მოზამთრე თოლიების მიკუთვნება დასავლეთ პალეარქტიკის, დასავლეთ და ცენტრალური აზიის თოლიის კონკრეტულ სახეობებთან; 2) თოლიების მიგრაციის დომინანტური მიმართულებების გამოვლენა; 3) სომხური თოლიის შავი ზღვისპირეთში ზამთრობის შესაძლებლობა; 4) გარეული იხვის მიგრაციების შესწავლა საქართველოს მთავარ წყალსატევებზე; 5) მოზამთრე გარეული იხვის პოპულაციათა კავშირი ერთმანეთთან, ეროპულ, აზიურ და საქართველოში მობუდარ გარეული იხვის პოპულაციებთან; 6) საქართველოს ტერიტორიაზე გარეულ წყალმცურავ და წყალთანა ფრინველებში ფრინველის გრიპის ვირუსის გავრცელება; 7) გარეულ წყალმცურავ ფრინველებში ფრინველის გრიპის ვირუსის ეკოლოგია და ეპიდემიოლოგია; 8) საქართველოში მოპოვებული

ფრინველის გრიპის ვირუსების გენეტიკური კავშირი ევრაზიაში გავრცელებული ფრინველის გრიპის ვირუსებთან; 9) იმის დადგენა, თუ აიხსნება ფრინველის გრიპის ვირუსის გენეტიკური ურთიერთ კავშირების სურათი შერჩეულ ფრინველთა სახეობების გადაადგილების გენეტიკური შესწავლის შედეგებით; 10) როგორ ხდება ვირუსის დინამიკა კოლონიურ Charadriformes-ებში; 11) Charadriiformes ჯგუფის ფრინველთა როლი ფრინველის გრიპის გავრცელებასა და ეკოლოგიაში.

თავი 2. მასალა და მეთოდები

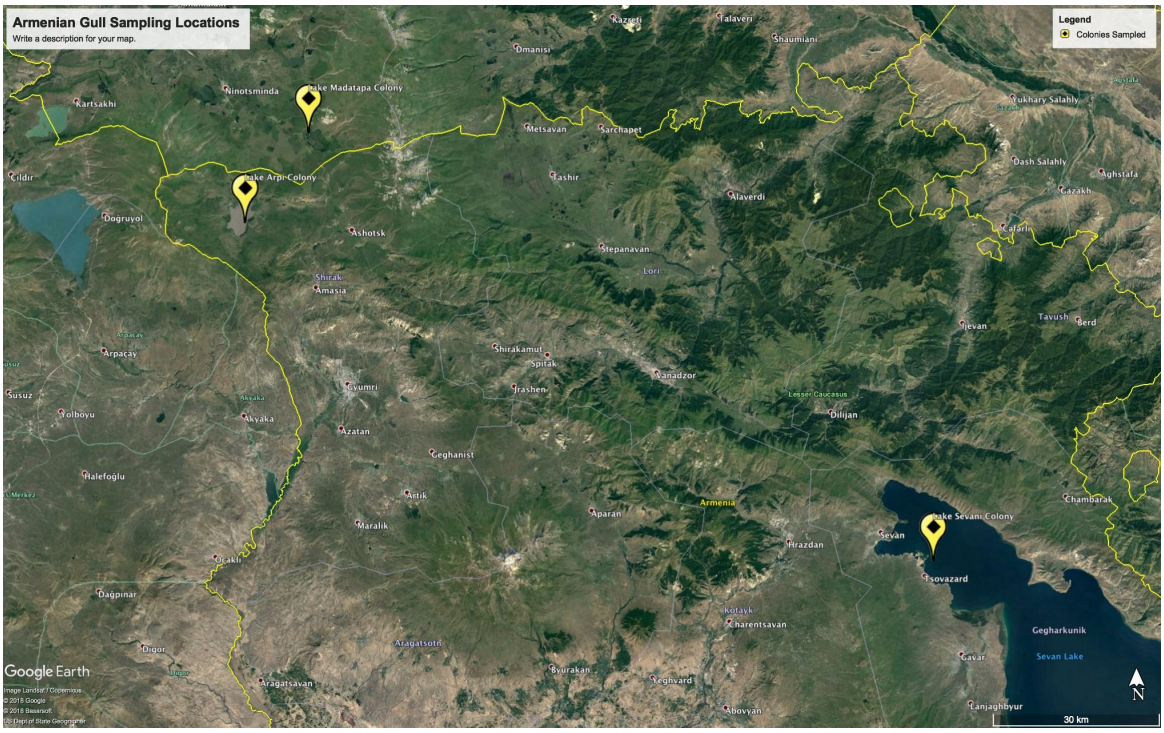
საველე კვლევის გეოგრაფია

წყლის ფრინველების ბუდობის, მიგრაციისა და ზამთრობისათვის მნიშვნელოვანი ადგილებია კოლხეთის დაბლობის წყალსატევები, ჯავახეთის ზეგანის ტბები და მტკვრის და ალაზნის დაბლობების წყალსატევები. საკვლევი ტერიტორია გეოგრაფიულად ევროპისა და აზიის გასაყარზე მდებარეობს, შავ და კასპიის ზღვებს შორის. მიუხედავად ტერიტორიის შედარებით მცირე ზომისა წყლის ფრინველების პოპულაციებისათვის ის მნიშვნელოვან ტერიტორიას წარმოადგენს (Lewis et al, 2013). გარეული იხვის ბუდობის, მიგრაციისა და ზამთრობისათვის მნიშვნელოვანი ადგილებია კოლხეთის დაბლობის წყალსატევები, ჯავახეთის ზეგანის ტბები და მტკვრის და ალაზნის დაბლობების წყალსატევები. საკვლევი ტერიტორია გეოგრაფიულად ევროპისა და აზიის გასაყარზე მდებარეობს, შავ და კასპიის ზღვებს შორის. მიუხედავად ტერიტორიის შედარებით მცირე ზომისა ევრაზიულ გარეული იხვის პოპულაციებისათვის მნიშვნელოვან ტერიტორიას წარმოადგენს (Lewis et al. 2011). ჩვენი კვლევისათვის მობუდარი გარეული იხვის სინჯები მოვიპოვეთ ჯავახეთის ზეგანის ტბებიდან. მიგრანტი გარეული იხვის სინჯები, შავი ზღვის პირეთიდან, ჯავახეთის ზეგანის ტბებიდან და კუმისის და ჯანდარის ტბებიდან, მოზამთრე გარეული იხვის სინჯები კი შავი ზღვის პირეთიდან და კუმისის და ჯანდარის ტბებიდან. იმისათვის, რომ შეგვედარებინა ჩვენს მიერ საქართველოში მოპოვებული სინჯები ევრაზიის გარეული იხვის სხვადასხვა მობუდარ პოპულაციებთან, სინჯები მოვიპოვეთ ინგლისიდან (დიდი ბრიტანეთი) ჩვენი პროექტის ფარგლებში კემბრიჯის უნივერსიტეტის კოლაბორატორების დახმარებით და ყაზახეთიდან (ჩრდილო და სამხრეთ ნაწილები) სადაც ჩავატარეთ

ექსპედიცია სინჯების მოპოვების მიზნით . ჩვენს საკვლევ ტერიტორიას სწორედ ეს ადგილები წარმოადგენდა (რუკა3).

რუკა 3. გარეული იხვის პოპულაციური გენეტიკის შესწავლისათვის მოპოვებული სინჯების გეოგრაფიული არეალი

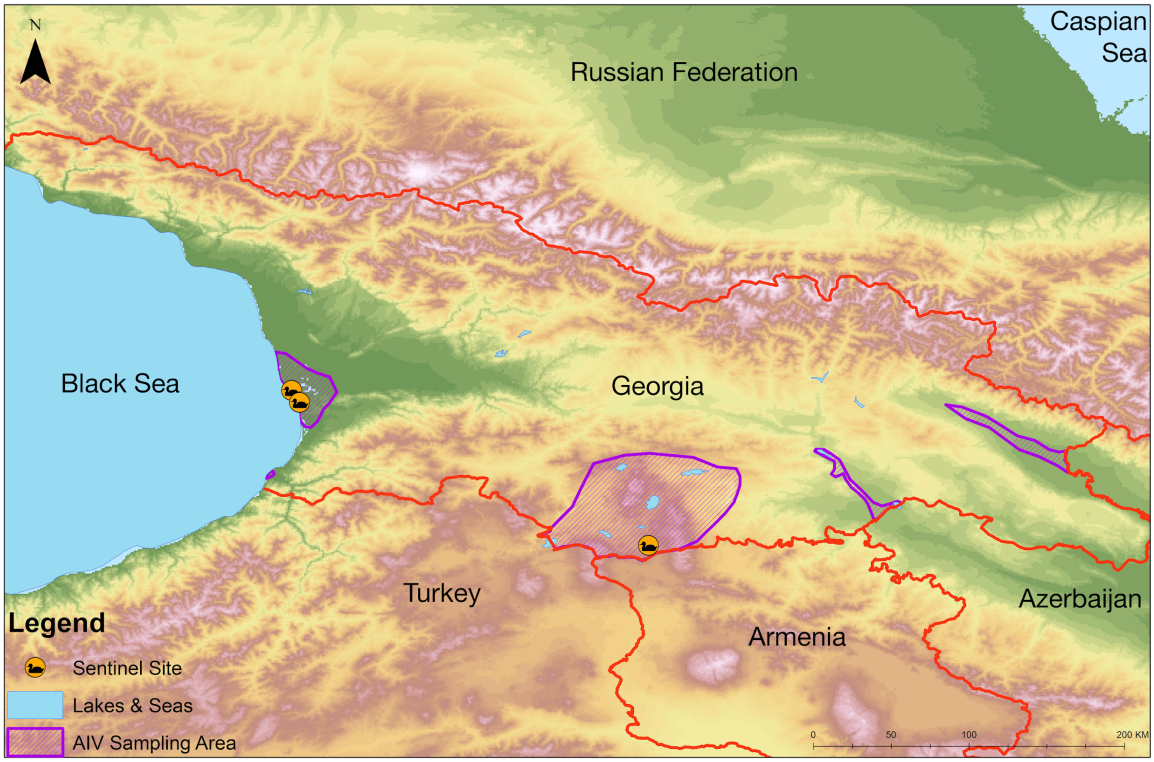
დიდი თეთრთავა თოლიის სახეობათა კომპლექსის მიგრაციისა და ზამთრობისათვის მნიშვნელოვანი ადგილებია კოლხეთის დაბლობის წყალსატევები, ჯავახეთის ზეგანის ტბები და მტკვრის და ალაზნის დაბლობების წყალსატევები. საკვლევი ტერიტორია გეოგრაფიულად ევროპისა და აზიის გასაყარზე მდებარეობს, შავ და კასპიის ზღვებს შორის. მიუხედავად ტერიტორიის შედარებით მცირე ზომისა ევრაზიულ დიდი თეთრთავა თოლიის სახეობათა კომპლექსის პოპულაციებისათვის მნიშვნელოვან ტერიტორიას წარმოადგენს. ჩვენი კვლევისათვის სომხური თოლიის სინჯები მოვიპოვეთ ჯავახეთის ზეგანის მობუდარი კოლონიიდან, სომხეთში სევანის და არპის ტბის მობუდარი კოლონიებიდან. ასევე შავი ზღვის პირეთის მოზამთრე დიდი თეთრთავა თოლიებიდან. ჩვენს საკვლევ ტერიტორიას სწორედ ეს ადგილები წარმოადგენდა (რუკა4).



რუკა 4. სომხური თოლიის კოლონიები, რომლიდანაც მოხდა სინჯების მოპოვება

თოლიების დასაჭერად ვიყენებდით რამოდენიმე მეთოდს სახეობიდან, ტერიტორიიდან და სინჯვის პერიოდიდან გამომდინარე. მოზამთრე თოლიების დასაჭერად ვიყენებდით დასასხლეტ ბადეს, მობუდარი თოლიების დასაჭერად ვიყენებდით ღამით ფანრით და ხელბადით ჭერის მეთოდს (Bub H. 1991).

ჩვენი კვლევისათვის მობუდარი გარეული ფრინველების სინჯები მოვიპოვეთ ჯავახეთის ზეგანის ტბებიდან. მიგრანტი ფრინველების სინჯები, შავი ზღვის პირეთიდან, ჯავახეთის ზეგანის ტბებიდან და კუმისის და ჯანდარის ტბებიდან. მოზამთრე წყლის ფრინველების სინჯები კი შავი ზღვის პირეთიდან და კუმისის და ჯანდარის ტბებიდან (რუკა 5).



რუკა 5. საქართველოში ფრინველის გრიპის ვირუსის კვლევის ტერიტორია

გრიპის ვირუსის საკვლევი ტერიტორია და სინჯის მოპოვების მეთოდი

წყლის ფრინველების დასაჭერად ვიყენებდით რამოდენიმე მეთოდს სახეობიდან, ტერიტორიიდან და სინჯვის პერიოდიდან გამომდინარე. მოზამთრე იხვების სინჯების მოსაგროვებლად ვიყენებდით მონადირეების მიერ კონკრეტულ ტერიტორიაზე მოპოვებულ გარეულ იხვებს, მობუდარი იხვების დასაჭერად ვიყენებდით ღამით ფანრით და ხელბადით ჭერის მეთოდს. ფრინველის დასაჭერად ვარჩევდით უმთვარო ღამეს. ორი მკვლევარი გადაადგილდებოდა ფრინველთა ღამის თევის ადგილას ძლიერი ფანრით და ხელბადით. ფრინველის შემჩნევის შემდეგ ერთი მკვლევარი ფანარს ანათებს ფრინველს და უახლოვდება პირდაპირ ისე რომ არ აშორებს ფრინველს ფანარს. მეორე მკვლევარი მიჰყვება გამნათებელს უკან ისე რომ ფანარმა არ გაანათოს ის. როდესაც მეფანრე მიუახლოვდება ფრინველს იმ მანძილზე რომ შესაძლებელია ხელბადის

დაფარება ის ჩერდება და მეორე მკვლევარი იჭერს ფრინველს ხელბადის მეშვეობით. ამ მეთოდით იხვების დაჭერა შესაძლებელია ინკუბაციის და განგურის პერიოდში. სხვა პერიოდში იხვების დასაჭერად ვიყენებდით შვედურ მახეს. მახე არის 30 მეტრის სიგრძის, 5 მეტრის სიგანის და 3 მეტრის სიმაღლის ლითონის გალია რომელიც განთავსებულია ტბის თავთხელ ნაპირზე. წყლის სიღრმე არ უნდა აღემატებოდეს 25-30 სმ-ს. გალიას გააჩნია შესასვლელი კონუსური ღრიჭოები ყოველ 5 მეტრში. ღრიჭოს სიგანე არის 10 სმ. გალიაში ვსვამდით სატყუარა იხვებს, რომლების იზიდავენ გარეულ იხვებს. სატყუარა იხვების ძახილის და კვების ხმაზე გარეული იხვები მიდიან გალიასთან და ცდილობენ სხვა იხვებთან მოხვედრას. ისინი პოულობენ ღრიჭოს და ძვრებიან გალიაში. მკვლევარები გამთენიისას მიდიან გალიასთან, შედიან შიგნით და ხელბადის მეშვეობით იჭერენ იხვებს (სურათი 3, 4).

სურ 3. იხვების საჭერი “შვედური მახე” მადატაფის ტბაზე

სურ 4. იხვების ჭერა “შვედურ მახეში” მადატაფის ტბაზე

მოზამთრე თოლიების დასაჭერად ვიყენებდით დასასხლეტ ბადეს, რომლის სიგრძეა 10 მეტრი ხოლო სიგანე 5 მეტრი. ბადე მოქმედებაში მოჰყავს რეზინის ჟგუტს რომელიც ცალი მხრიდან ჭიმანს ბადეს. ბადეს ვაგებდით ისეთ ტერიტორიაზე სადაც თოლიები ადვილად მოდიან სატყუარასთან. სატყუარად ვიყენებდით თევზს. ბადის დაფარვის შუაში ვყრიდით თევზს და ველოდებოდით სანამ თოლიები დასხდებოდნენ სატყუარასთან. როდესაც დავრწმუნდებოდით რომ საკმარისი რაოდენობის თოლია იყო მახესთან, ბადის ერთ კიდეზე გამობმულ თოკს ვქაჩავდით რაც საწყის ბიძგს აძლევს ბადას რათა მოვიდეს მოქმედებაში და დაიხუროს. დახურვის შემდგომ მკვლევარები სწრაფად მიდიან ბადესთან და იწყებენ ფრინველების გამოხსნას და სპეციალურ რბილკედლებიან ყუთში მოთავსებას (Bub H. 1991). ეს მეთოდი არის ეფექტური მოზამთრე თოლიების დასაჭერად. მობუდარი თოლიების დასაჭერად ვიყენებდით ღამით ფანრით და ხელბადით ჭერის მეთოდს. თოლიების დასაჭერად ვარჩევდით უმთვარო ღამეს. ორი მკვლევარი გადაადგილდებოდა თოლიების საბუდარ კოლონიაზე ძლიერი ფანრით და ხელბადით. თოლიის შემჩნევის შემდეგ ერთი მკვლევარი ფანარს ანათებს

ფრინველს და უახლოვდება პირდაპირ ისე რომ არ აშორებს ფრინველს ფანარს. მეორე მკვლევარი მიჰყვება გამნათებელს უკან ისე რომ ფანარმა არ გაანათოს ის. როდესაც მეფანრე მიუახლოვდება ფრინველს იმ მანძილზე, რომ შესაძლებელია ხელბადის დაფარება ის ჩერდება და მეორე მკვლევარი იჭერს ფრინველს ხელბადის მეშვეობით. დაჭერის შემდეგ ვიღებდიტ სინჯებს გენეტიკური და ვირუსოლოგიური კვლევისათვის (სურათი 5) ამ მეთოდით თოლიების დაჭერა შესაძლებელია ინკუბაციის პერიოდში საბუდარ კოლონიაზე (Bub H. 1991).

სურ 5. ღამით თოლიების ჭერა და სინჯვა მადატაფის საბუდარ კოლონიაზე

მცირე ზომის გადამფრენი ფრინველების (მენაპირეების) დასაჭერად ვიყენებდით სახლართ ბადეებს. სახლართი ბადეების გაბმა ხდებოდა შებინდებისას ტერიტორიაზე სადაც ჩვენი დაკვირვებით დაფრინავდნენ მენაპირეები. ღამის დადგომასთან ერთად გავშლიდით ბადეებს და ვრთავდით კონკრეტული სახეობის მენაპირის ხმოვან ჩანაწერს რომელიც გამოიყენება ფრინველების მისაზიდად. ბადეები მოწმდებოდა ყოველ ნახევარ 20 წუთში მთელი ღამის მანძილზე. ბადეში მოხვედრილი ფრინველებს ვხსნიდით ბადიდან და ვათავსებდით სპეციალურ ტომარაში. შედარებით დიდი ზომის მენაპირეების დასაჭერად ვიყენებდით

ზამბარიან მახეებს. მახეების დაგება ხდება ჭაობში, მცენარეულით დაფარულ ადგილას სადაც დღის განმავლობაში თავს აფარებენ მენაპირეები და სხვა წყალთანა ფრინველები. ფრინველის მისაზიდად, მახეში მაგრდება ფქვილის ჭიის მატლი. ფრინველი შედის მახეში და ცდილობს მატლის შეწმას რაც ახდენს ზამბარიანი მექანიზმის მოქმედებაში მოყვანას და მახის დაკეტვას (სურათი 6)(Bub H. 1991).

სურ 6. ორი სხვადასხვა დიზაინის ზამბარიანი მახით დაჭერილი ლაინა (*Rallus aquaticus*) და ყვითელი ბოლოქანქარა (*Motacilla flava*)

კვლევის მიმდინარეობისას გენეტიკურ და ვირუსის სინჯებს ვიღებდით წყლის და წყალთანა ფრინველებიდან. განსაკუთრებული ძალისხმევა დაეთმო Anseriformes-ი და Charadriiformes ჯგუფის ფრინველებიდან სინჯების მოპოვებას. მცირე ზომის გადამფრენი თოლიებიდან სინჯების ასაღებად ვიყენებდით გარემოდან ფეკალური სინჯის აღების მეთოდს, რომლის დროსაც წინასწარ ხდება დაკვირვება თოლიის გუნდზე რომელიც დასასვენებლად ზის მიწაზე ან რამე მყარ სუბსტრატზე. ხდება სახეობების გარკვევა და შემდგომ ფრინველების დაფრთხობა. იმ ტერიტორიაზე სადაც ისხდნენ ფრინველები რჩება თოლიების ფეკალიები, რომლიდანაც ხდება სინჯის აღება. დაჭერილი ფრინველებიდან ვიღებდით ტრაქეალურ და კლოაკალურ სინჯებს. ტრაქეალური სინჯის აღება ხდებოდა სტერილური

ბამბის აპლიკატორით ფრინველის ტრაქეიდან (სურათი 7).

სურ 7. ტრაქეალური სინჯის აღება ჰეუგლინის თოლიიდან (*Larus heuglini*)

ხოლო კლოაკალური სინჯის აღება ხდებოდა სტერილური ბამბის აპლიკატორით ფრინველის კლოაკიდან (სურათი 8).

სურ 8. კლოაკალური სინჯის აღება ჰეუგლინის თოლიიდან (*Larus heuglini*)

სინჯების შენახვა ხდებოდა ვირუსის ტრანსპორტირების ხსნარში (10% გლიცეროლი, 200 U/ml პენიცილინი, 200 mg/ml სტრეპტომიცინი, 100 U/ml პოლიმიქსინ B სულფატი და 250 mg/ml გენტამიცინი). ამის შემდეგ ველზე სინჯი ინახებოდა ყინულის ბლოკებზე 1-4 C გარემოში და 6 საათის განმავლობაში ხვდებოდა ლაბორატორიაში სადაც ინახებოდა მაცივარში - 70 C ტემპერატურაზე.

დაჭერილი ფრინველებიდან ასევე ვიღებდით სისხლის სინჯს ანტისხეულებით დიაგნოსტირებისა და გენეტიკური ანალიზისათვის. სისხლის სინჯის აღება ხდებოდა მედიალური მეტატარსული(ფეხის) ვენიდან ან ბრაქიალური (ფრთის) ვენიდან (სურათი 9, 10).

სურ 9. სისხილ სინჯის აღება ჰეუგლინის თოლიიდან (*Larus heuglini*) ფეხის ვენიდან

სურ 10. სისხლის სინჯის აღება გარეული იხვის ბრაქიალური ვენიდან

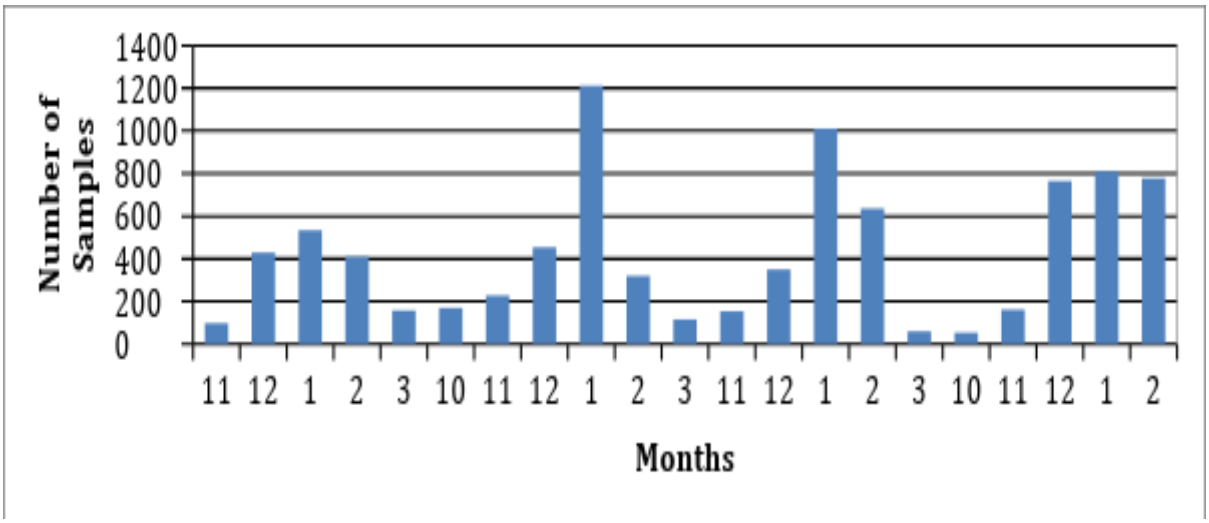
საველე კვლევების პერიოდი და სინჯის აღების დინამიკა

სინჯების აღება ხდებოდა 2009 წლის შემოდგომიდან და მიმდინარეობს დღესაც. კვლევის პერიოდში მოვიპოვეთ 30 000 მეტი სინჯი. სინჯის აღების გრაფიკი დამოკიდებული იყო საკვლევ ტერიტორიაზე და იქ ფრინველების ყოფნაზე. 2013 წლიდან სინჯების აღებასთან ერთად ვითვლიდით წყალმცურავ ფრინველებს შესაბამის წყალსატევებზე. პალიასტომის ტბასა და კოლხეთის დაბლობზე სინჯების მოპოვება ძირითადად ხდებოდა იმ პერიოდში როდესაც იქ ფრინველები კონცენტრირდებიან. სინჯების აღების პარარელურად ვითვლიდით წყლის ფრინველებს პალიასტომის ტბაზე. ჩვენს მიერ აღებული სინჯების რაოდენობის დინამიკა ემთხვევა ტბაზე ფრინველების რაოდენობის დინამიკას (სურათი 11,12).

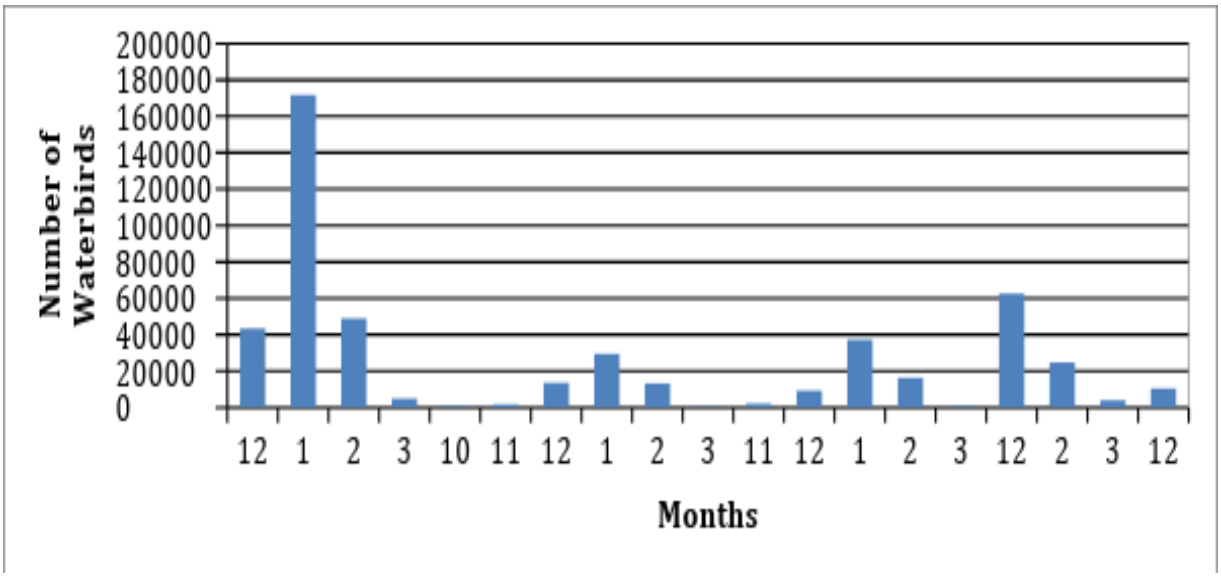
სურ. 11 ზე სინჯების მოპოვების დინამიკა პალიასტომის ტბასა და კოლხეთის დაბლობზე 2013–2017 წლებისათვის არის მოცემული.

სურ. 12 ზე მოცემულია წყალმცურავ ფრინველთა აღრიხცვის შედეგები ასევე 2013-2017 წლებისათვის.

ორივე გრაფიკზე მოპოვებული სინჯების და აღრიცხული ფრინველების ჯამური რაოდენობა მოცემულია თვეების მიხედვით.



სურ 11. პალიასტომის ტბაზე და კოლხეთის დაბლობზე გრიპის სინჯების მოპოვების გრაფიკი თვეების მიხედვით 2013-2017



სურ 12 . პალიასტომის ტბაზე აღრიცხული წყალმცურავი ფრინველების რაოდენობა თვეების მიხედვით 2013–2017

დნმ-ს გამოყოფა

დნმ-ს ექსტრაქციას ქსოვილების, სისხლის, ბუმბულის სინჯებიდან ვანხორციელებდით QIAGEN- რეაქტივებით შემდეგი პროტოკოლის მიხედვით:

1. ვასუფთავებდით სამუშაო მაგიდას. ლაბორატორიულ რვეულში ვიწერდით შემდეგ ინფორმაციას: სინჯის ნომერი, თარიღი და დეტალურად სამოქმედო გეგმას. ერთდროულად რამოდენიმე სინჯზე მუშაობისას ვიმეორებდით ყველა საფეხურს ყოველი სინჯისთვის ცალ-ცალკე.
2. 1.5ml ეპენდორფის მილს ვაწერდით სინჯის ნომერს და ვასხამდით 180 µl ATL ბუფერს, ვუმატებდით 20 µl Proteinase K. და ვავორტექსებდით.
3. 25 mg ქსოვილს ვათავსებდით სასაგნე მინაზე და სტერილური ინსტრუმენტებით ვაქუცმაცებდით მცირე ნაწილებად. შემდეგ ვათავსებდით შესაბამისს ეპენდორფის მილში და ვავორტექსებდით.
4. ეპენდორფის მილებს ვათავსებდით 55°C და ვავორტექსებდით. ახალი ქსოვილის შემთხვევაში რამოდენიმეჯერ დავორტექსების შემდეგ, ვნახულობდით თუ როგორ იშლებოდა ქსოვილი ხსნარში. სამუზეუმო მასალაზე მუშაობის შემთხვევაში ქსოვილს მთელი ღამით ვათავსებდით ინკუბატორში.
5. ყოველ სინჯს ვუმატებდით 200 µl AL ბუფერს და ვავორტექსებდით.
6. ვაცხელებდით ინკუბატორს 70°C და სინჯებს 70°C 10 წუთის განმავლობაში ვათავსებდით კამერაში.
7. სინჯებს ვუმატებდით 210 µl 100% სპირტს და ვავორტექსებდით.
8. სინჯებს ვათავსებდით ფილტრიან მილებში, ვაცენტრიფუგირებდით 8000 rpm 1 წთ.
9. გამოდევნებულ ბუფერს ვღვრიდით და ყველ სინჯს ვუმატებდით 500 µl AW1 . შემდგომ ვაცენტრიფუგებდით 8000 rpm 1 წთ.
10. გამოდევნებულ ბუფერს ვღვრიდით, ყოველ სინჯს ვუმატებდით 500 µl AW2 ბუფერს და ვაცენტრიფუგებდით 11000 rpm 3 წთ.

11. ფილტრიან სინჯარას ვათავსებდით ახალ სინჯარაში, ვუმატებდით 200 µl AE ბუფერს. ბუფერის დამატების შემდეგ სინჯებს ვათავსებდით ოთახის ტემპერატურაზე 5 წთ. და ვაცენტრიფუგირებდით 8000 rpm 1 წთ.
12. ვამზადებდით 2 მლ ხრახნიან მილებს, ვაწერდით სინჯის სახელს, სახეობას, თარიღს და ჩვენს ინიციალებს. დნმ-ი გადაგვქონდა შესაბამის მილში და სინჯებს, პჯრ რეაქციის ჩატარებამდე ვინახავდით მაცივარში.

მიტოქონდრიული დნმ-ს ამპლიფიკაცია და ანალიზი

თოლიები

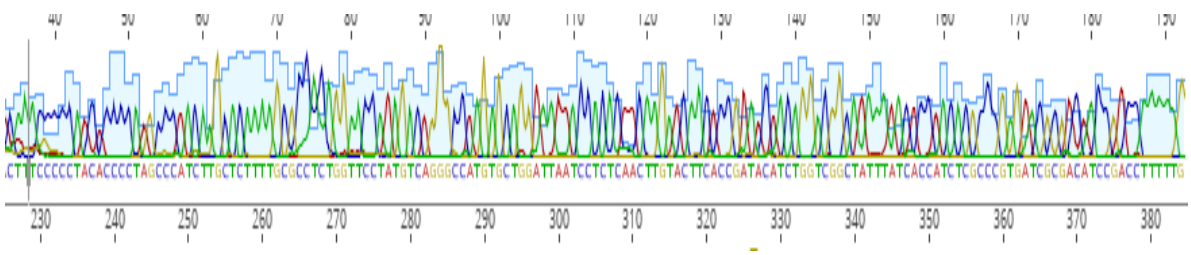
მოვახდინეთ 1600 bp სიგრძის მიტოქონდრიული დნმ-ს ამპლიფიცირება და სექვენირება. სექვენირებული მიტოქონდრიული დნმ მოიცავდა 735 bp ციტოქრომ ბ-ს, 530 bp საკონტროლო რეგიონს და 350 bp ჰიპერ ვარიაბელურ უბან I - ს (HVR-I).

პჯრ და სექვენირების რეაქცია განვახორციელეთ ცხრილში (ცხრილი 1) მითითებული პრაიმერების მიხედვით. ამპლიფიკაციის პროტოკოლი იყო შემდეგნაირი: 20 ul ჯამურ მოცულობაში შევურიეთ, 2-4 ul მოცულობის დნმ, 1.5 U პრომეგას ტაგ პოლიმერაზა, 1x პრომეგას ბუფერი, 2.5 Mm MgCl2, 0.1 mM თვითოეული dNTP, პრაიმერი 0.1 mM კონცენტრაციით და პჯრ პროფილი; 95C ორი წუთის განმავლობაში; 30 ციკლი 94C 45 წამის განმავლობაში, 56 C 1 წუთის განმავლობაში, 72C 2 წუთის განმავლობაში და საბოლოოდ 72C 10 წუთის განმავლობაში. 3-5 ul ალიქვოტები თვითოეული სინჯიდან გავუშვით 1% აგაროზის გელზე დნმ ფრაგმენტების ვიზუალიზაციისათვის SYBRSafe შეღების მეთოდის მეშვეობით. ამპლიკონები დავასექვენირეთ ავტომატურ სექვენატორზე ABI 3130. ერთ ჯაჭვიანი დნმ-ს ფრაგმენტების სექვენირება მოვახდინეთ პჯრ პრაიმერების მეშვეობით, რისთვისაც გამოვიყენეთ Big-Dye Terminator v3.1. რეაქტივების ნაკრები. პჯრ ფრაგმენტები დავასექვენირეთ ორივე მიმართულებით სევენირების სიზუსტისათვის.

Mt DNA	პრაიმერი	სეგმენტი	სახეობა	რეფერენსი
L14967	F:CATCCAACATCTCTGCTTGATGAAA	CytB	Gull	Pons 1995
H15938	R: ATGAAGGGATGTTCTACTGGTTG	CytB	Gull	Pons 1995
H15503	GATCCTGTTTCGTGGAGGAAGGGT	CytB	Gull	Pons 1995
L438	TCACGTGAAATCAGCAACCC	D-loop	Gull	Wenink et al., 1993
H1248	CATCTTCAGTGCCATGCTTT	D-loop	Gull	Wenink et al., 1993
L699	ATAAACCCCTCCAGTGCACC	D-loop	Gull	Wenink et al., 1993

ცხრილი 1. თოლიის მიტოქონდრიული დნმ-ს საანალიზოდ გამოყენებული პრაიმერები

თოლიის მიტოქონდრიული დნმს სექვენირების შედეგად ვიღებდით ფაილებს (სურათი 13).



სურათი 13. თოლიის მიტოქონდრიული დნმს საკონტროლო რეგიონის ფრაგმენტის ნუკლეოტიდური თანმიმდევრობა.

იხვები

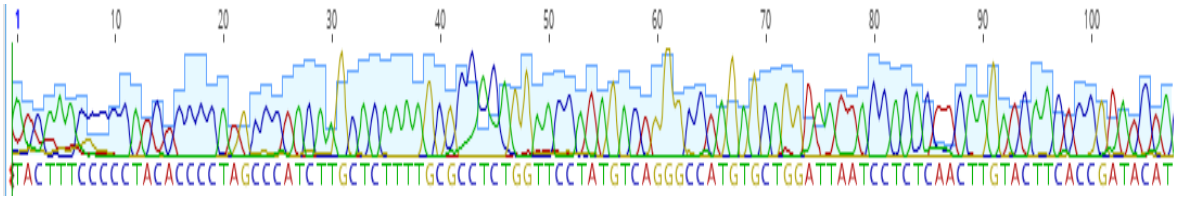
მოვახდინეთ 840 bp სიგრძის მიტოქონდრიული დნმ-ს საკონტროლო რეგიონის და ციტოქრომ ბ მონაკვეთის ამპლიფიცირება და სექვენირება. პჯრ და სექვენირების რეაქცია განვახორციელეთ ცხრილში (ცხრილი 2) მოყვანილი პრაიმერების მიხედვით. ამპლიფიკაციის პროტოკოლი იყო შემდეგნაირი: 20 ul ჯამურ მოცულობაში შევურიეთ, 2-4 ul მოცულობის დნმ, 1.5 U პრომეგას ტაგ პოლიმერაზა, 1x პრომეგას ბუფერი, 2.5 lm MgCl2, 0.1 mM თვითოეული dNTP, პრაიმერი 0.1 mM კონცენტრაციით და პჯრ პროფილი; 95C ორი წუთის განმავლობაში; 30 ციკლი 94C 45 წამის განმავლობაში, 56 C 1 წუთის განმავლობაში, 72C 2 წუთის განმავლობაში და საბოლოოდ 72C 10 წუთის განმავლობაში. 3-5 ul ალექვოტები თვითოეული სინჯიდან გავუშვით 1% აგაროზის გელზე დნმ ფრაგმენტების ვიზუალიზაციისათვის SYBRSafe დალაქვის მეთოდის მეშვეობით. ამპლიკონები დავასექვენირეთ ავტომატურ სექვენსერზე ABI 3130. ერთ ჯაჭვიანი დნმ-ს ფრაგმენტის სექვენირება მოვახდინეთ პჯრ პრაიმერების მეშვეობით რისთვისაც გამოვიყენეთ Big-Dye Terminator v3.1. რეატივების ნაკრებით. პჯრ ფრაგმენტები დავასექვენირეთ ორივე მიმართულებით სევენირების სიზუსტისათვის.

Mt DNA	პრაიმერი	სეგმენტი	სახეობა	რეფერენსი
L14841	AAAAAGCTTCCATCCAACATCTCAGCATGATGAAA	CytB	Mallard	Kocher et al., 1989

H15149	AAACTGCAGCCCCTCAGAATGATATTTG TCCTCA	CytB	Mallard	Kocher et al., 1989
L194	CCTACCTATCGGACTACCCTC	d-loop	Mallard	He et al.
H716	GCAGGTGTGTCCAGGCTTAGA	d-loop	Mallard	He et al.
L15230	ACCCTGACCCGATTCTTC	CytB	Mallard	He et al.
H15774	GATGCGAGTTGCCCGATGA	CytB	Mallard	He et al.

ცხრილი 2. გარეული იხვის მიტოქონდრიული დნმ-ს საანალიზოდ გამოყენებული პრაიმერები

გარეული იხვის მიტოქონდრიული დნმს სექვენირების შედეგად ვიღებდით ფაილებს (სურათი 14).



სურათი 14. იხვის მიტოქონდრიული დნმს საკონტროლო რეგიონის სექვენსი

იხვების სექვენსების გასწორება მოხდა GenBank-იდან ჩამოტვირთულ სექვენსებთან პროგრამა BioEdit v 7.0 მეშვეობით (Hall 1999). ყველა შესაძლო ევოლუციური გზის აღდგენა მოხდა მედიან ჯოინინგის (MJ) ალგორითმის გამოყენებით (Donnelly and Tavare 1986, Bandelt et al. 1999) პროგრამა Network 5 ის მეშვეობით (Bandelt et al. 1999). სექვენსების ანალიზი მოხდა მაქსიმალური მსგავსების (ML) MEGA v7 - (Kumar et al. 2016) და ბეისისეული სტატისტიკური მეთოდის გამოყენებით BEAST

package (BEAST 2.4.5 Drummond et al., 2012) პროგამული პაკეტების მეშვეობით. ნუკლეოტიდის ცვლილების მოდელის შერჩევა მოხდა აკაიკეს ინფორმაციული კრიტერიუმის მსგავსების წილის ტესტის გამოყენებით Modeltest 3.7 (Posada and Buckley, 2004) პროგრამის მეშვეობით. თოლიების სექვენსების გასწორება მოხდა GenBank-იდან ჩამოტვირთულ სექვენსებთან პროგრამა BioEdit v 7.0 მეშვეობით (Hall 1999). დიდი თეთრთავა თოლიებს შორის ყველა შესაძლო ევოლუციური გზის აღდგენა მოხდა მედიან ჯოინინგის (MJ) ალგორითმის გამოყენებით (Donnelly and Tavare 1986, Bandelt et al. 1999) პროგრამა Network 5 ის მეშვეობით (Bandelt et al. 1999). ყველა შესაძლო ევოლუციური გზის აღდგენა მოხდა მედიან ჯოინინგის (MJ) ალგორითმის გამოყენებით (Donnelly and Tavare 1986, Bandelt et al. 1999) პროგრამა Network 5 ის მეშვეობით (Bandelt et al. 1999). სექვენსების ანალიზი მოხდა მაქსიმალური მსგავსების (ML) MEGA v7 - (Kumar et al. 2016) და ბეისისეული სტატისტიკური მეთოდის გამოყენებით BEAST package (BEAST 2.4.5 Drummond et al., 2012) პროგამული პაკეტების მეშვეობით. ნუკლეოტიდის ცვლილების მოდელის შერჩევა მოხდა აკაიკეს ინფორმაციული კრიტერიუმის მსგავსების წილის ტესტის გამოყენებით Modeltest 3.7 (Posada and Buckley, 2004) პროგრამის მეშვეობით.

გენოტიპირება

თოლიები

160 დიდი თეთრთავა თოლიის სინჯი მობუდარი და მოზამთრე პოპულაციიდან გავაანალიზეთ 20 ფლუორესცენტულად მონიშნული ბირთვული მარკერის (HG14, HG18, HG25, K16, K31, K32, K56, K6, HG16, HG27, LARZAP 12; Lasa-8, RBG27; RBG13; Lasa-2, Lasa-3; Lasa-6) მეშვეობით (Denk et al., Crochet et al, 2003. Titrad et. al., 2002) (ცხრილი 3).

ლოკუსი	პრაიმერი 5'-3'	ანელინგის t	ფერი	რეფერენსი
HG27	F: AGTGCAGGCAATAGTGTTGG	55	6-FAM	CROCHET ET AL., 2003
HG27	R: GGATCTCTGGGCTCCTGGAG	55		CROCHET ET AL., 2003
K32	F: CATTGCACGAGTGTTAAGCTG	55	6-FAM	Titrad et al., 2002
K32	R: AAGGGTGCCTGTCCTTGTC	55		Titrad et al., 2002
HG18	F: AGCCCACACCTCTGGCATTG	58	NED	CROCHET ET AL., 2003
HG18	R: TAGCAGCTGCCATACATCAG	58		CROCHET ET AL., 2003
K16	F: TGCAATTTGTACAACCAGATTT	58	NED	Titrad et al., 2002
K16	R: GGGTTCCTGTTTGCAATGAA	58		Titrad et al., 2002
K31	F: TTCTCGGGCACATAAACCTC	58	NED	Titrad et al., 2002
K31	R: CTCGCAGCATCTGGAAGG	58		Titrad et al., 2002
K6	F: AAAAAGAAAGCACCCTCTTC	55	PET	Titrad et al., 2002
K6	R: AAGTGGGATATGAAAGATGC	55		Titrad et al., 2002
k56	F: CCTGACTGCAGAGTTGGAG	55	PET	Titrad et al., 2002

k56	R: TGAGAACGGACTTTCTTTGG	55		Titrad et al., 2002
HG14	F: ATCGCTGCCAGGGCTGAGC	58	VIC	CROCHET ET AL., 2003
HG14	R: TGTCTCGGGGAGTGTTTGCC	58		CROCHET ET AL., 2003
HG25	F: TACCTCCGCTCTCCCCTCCA	58	VIC	CROCHET ET AL., 2003
HG25	R: GGAGCAGCCGACAAAGCCTC	58		CROCHET ET AL., 2003
Hg16	F: TGATGCTTTGGCTGCAAATG	58	VIC	CROCHET ET AL., 2003
Hg16	R: GTCTTTGCCATATGGGTTCC	58		CROCHET ET AL., 2003

LARZAP14	F: TTGTATCAAAAATCCATTAA	55	VIC	Gregory & Quinn, 2006
	R: TTCCCGAGTAAACATGGCTT	55		Gregory & Quinn, 2006
LARZAP12	F: CAGAATTGAAAATGTACAGCTC	55	NED	Gregory & Quinn, 2006
	R: TGGAAGTATGTGGGTTCCTGT	55		Gregory & Quinn, 2006
Rbg27	F: GGAATTTTCGTTGGCAGGAT	55	6-FAM	Given et al., 2002
	R: GAAATCACAGTGAAAACGCC	55		Given et al., 2002

Rbg13	F: CAGGAGGGAAAGCCCATATG	55	VIC	Given et al., 2002
	R: GACAGGCAGGAAAGAATCTC	55		Given et al., 2002
Rbg20	F: GGCCAAATACATATTTAAATTC	55	VIC	Given et al., 2002
	R: AAGTTCTTGAAAATCAGCTC	55		Given et al., 2002
Rbg28	F: ACAAACTTCTGGTGCCCC	55	NED	Given et al., 2002
	R: TACACACCCCATTGCATTTC	55		Given et al., 2002
Lasa-2	.F: TTGCAACACCTCCATGCTG	55	6-FAM	Jiang et al., 2011
	R: CACGCTCAACCTTGCTGG	55		Jiang et al., 2011
Lasa-8	F: CCATGGCAACTCTTCCGC	55	NED	Jiang et al., 2011
	R: TGCGGATTTGTGCTTTCCC	55		Jiang et al., 2011
Lasa-7	F: CCACTCCATCATCCCTAACC	55	6-FAM	Jiang et al., 2011
	R: TCCCACTTGTGTGAAGACC	55		Jiang et al., 2011
Lasa-3	F: GATGTCCCACCTGGTCTCC	55	PET	Jiang et al., 2011
	R: GCCATCTAAGGTACCAATGAGC	55		Jiang et al., 2011

Lasa-6	F: GATGTCCCACCTGGTCTCC	55	6-FAM	Jiang et al., 2011
	R: TCTTAGAGCCGTGCTGTCC	55		Jiang et al., 2011

ცხრილი 3. თოლიების გენოტიპირებისას გამოყენებული პრაიმერები

ყველა ლოკუსი ამპლიფიცირდა 3 ჯერ გენოტიპირების შეცდომის თავიდან ასაცილებლად. ყველა ინდივიდის ყველა ლოკუსი გადამოწმდა 2 ჯერ ჰეტეროზიგოტულობაზე და 3 ჯერ ჰომოზიგოტურობაზე. გენოტიპირების შედეგად მივიღეთ შემდეგი ტიპის ფაილი (სურათი 15).

სურათი 15. თოლიის ბირთვული მარკერის ალელები.

გენეტიკური ვარიაბელურობის ანალიზისათვის გამოვიყენეთ მოლეკულური ვარიაბელურობის (AMOVA) მეთოდი, პროგრამა ARLEQUIN -ის მეშვეობით (Excoffier et al. 2005). გენეტიკურად ჰომოგენური

ჯგუფების გამოსავლენად გამოვიყენეთ ბეიესისეული დაჯგუფების მიდგომა პროგრამა STRUCTURE - ის მეშვეობით (Pritchard et al. 2000).

იხვები

141 გარეული იხვის სინჯი მობუდარი და მოზამთრე პოპულაციიდან გავაანალიზეთ 10 ფლუორესცენტულად მონიშნული ბირთვული მარკერის (Apl11, Apl12, Apl23, Apl14, Caud13, Apl26, Apl36, Apl2, Caud13, Caud24.) მეშვეობით (ცხრილი 4).

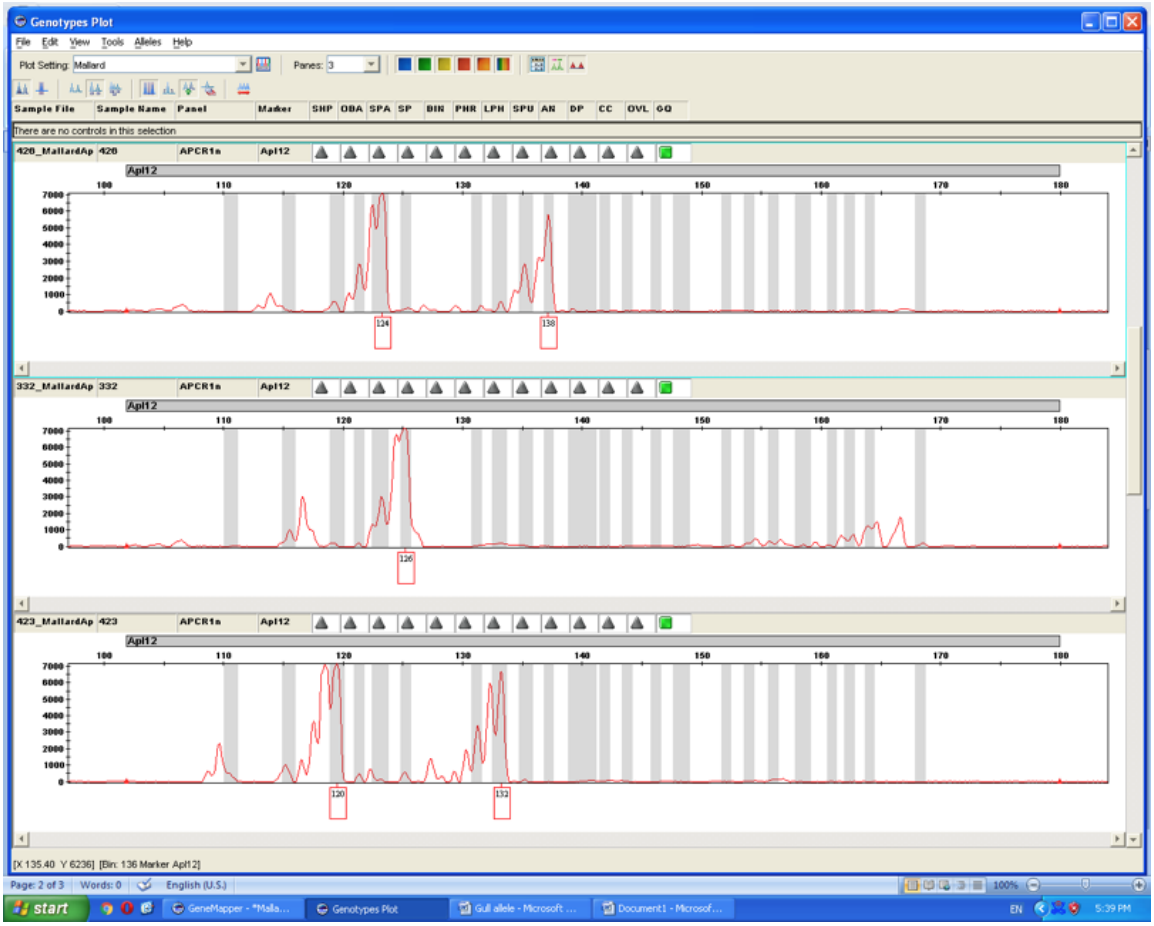
ლოკუსი	პრაიმერი	ანელინგის t	ფერი	რეფერენსი
Apl2	F: GATTCAACCTTAGCTATCAGTCTCC	60	6-FAM	Denk et al., 2004
Apl2	R: CGCTCTTGGCAAATGTCC	60		Denk et al., 2004
Apl26	F: AACAGGGATAACATGAGAAGTGG	60	6-FAM	Denk et al., 2004
Apl26	R: TGAGCAGCTGTCTGGTATCTATTC	60		Denk et al., 2004
Apl23	F: GAAGAGGCAGTGGCAACG	60	6-FAM	Denk et al., 2004
Apl23	R: GCTGAGATGCTCCCAGGAC	60		Denk et al., 2004
Apl11	F: AACTACAGGGCACCTTATTTCC	60	NED	Denk et al., 2004

Apl11	R: TTGCATCAGGGTCTGTATTTTC	60		Denk et al., 2004
CAUD019	F:CTTAGCCCAGTGAAGCATG	58	NED	Huang et al., 2005
CAUD019	R:GCAGACTTTTACTTATGACTC	58		Huang et al., 2005
Apl12	F: AGTTGACCCTAATGTCAGCATC	60	PET	Denk et al., 2004
Apl12	R: AAGAGACACTGAGAAGTGCTATTG	60		Denk et al., 2004
Apl14	F: CCTTTTCCAAGGGGCTACAC	60	VIC	Denk et al., 2004
Apl14	R: CTCTTCCCCAAAACGTCATC	60		Denk et al., 2004
Apl36	F: ATGCTTTGCTGTTGGAGAGC	60	VIC	Denk et al., 2004
Apl36	R: TCCACTGGGTGCAAACAAG	60		Denk et al., 2004
CAUD024	F:TCGCATTAAGCTCTGATCT	55.5	VIC	Huang et al., 2005
CAUD024	R:ATCAACAGAATCCAAAATATG	55.5		Huang et al., 2005
CAUD013	F:ACAATAGATTCCAGATGCTGAA	58.1	VIC	Huang et al., 2005

CAUD013	R:ATGTCTGAGTCCTCGGAGC	58.1		Huang et al., 2005

ცხრილი 4. გარეული იხვის გენოტიპირებისას გამოყენებული პრაიმერები

ყველა ლოკუსი ამპლიფიცირდა 3 ჯერ გენოტიპირების შეცდომის თავიდან ასაცილებლად. ყველა ინდივიდის ყველა ლოკუსი გადამოწმდა 2ჯერ ჰეტეროზიგოტულობაზე და 3 ჯერ ჰომოზიგოტურობაზე. გენოტიპირების შედეგად მივიღეთ შემდეგი ტიპის ფაილი (სურათი 16).



სურათი 16. გარეული იხვის ბირთვული მარკერის ალელები

გენეტიკური ცვალებადობის ანალიზისათვის გამოვიყენეთ მოლეკულური ვარიაბელურობის (AMOVA) მეთოდი, პროგრამა ARLEQUIN -ის მეშვეობით (Excoffier et al. 2005). გენეტიკურად ჰომოგენური ჯგუფების გამოსავლენად გამოვიყენეთ ბეიესისეული დაჯგუფების მიდგომა პროგრამა STRUCTURE - ის მეშვეობით (Pritchard et al. 2000).

ვირუსოლოგიური კვლევის მეთოდები

ვირუსის სინჯები ველზე აღების შემდეგ ინახება -70 C საყინულეში. ფრინველის გრიპის ვირუსის ლაბორატორიული კვლევები შედგება რამოდენიმე ეტაპისაგან. პირველი ეტაპი არის სინჯების დიაგნოსტირება ვირუსის არსებობაზე (ვირუს პოზიტიურობა). პირველადი შემოწმება ხდება RT-PCR (RRT-PCR) გამოყენებით. მატრიცული რნმ–ს მეშვეობით. ამ მეთოდის გამოყენების დროს ხდება სინჯიდან რნმ ის გამოყოფა MagnaPure LC სისტემის მეშვეობით MagnaPure LC ნუკლეინმჟავას სრულად გამოყოფის ნაკრების გამოყენებიტ (Roche Diagnostics, ალმარი, ჰოლანდია). შემდგომ ეტაპზე ხდებოდა RT-PCR ის მეშვეობით ა ტიპის გრიპ სპეციფიური მატრიცული გენის მონაკვეთის ძებნა სინჯებში (Hanson et al, 2008). მატრიცული გენის (M) სეგმენტის ამპლიფიკაცია და დეტექცია ხდებოდა ABI 7500 რეალ თაიმ პჯრ სისტემის მეშვეობით (Applied Biosystems, კალიფორნია, აშშ) TaqMan EZ RT-PCR ნაკრების გამოყენებით (Applied Biosystems, კალიფორნია, აშშ). შემდეგი პროტოკოლის მიხედვით: 20ul TaqMan EZ RT-PCR ნაკრების ქიმიკატებს ვათავსებდით 50ul მოცულობის ჭურჭელში. სადიაგნოსტიკო სინჯები (32 სინჯი) მზადდებოდა პარალელურად 3 ნეგატიურ და 2 პოზიტიურ საკონტროლო სინჯთან ერთად. დიაგნოსტირების პროცედურის შემდგომ ხდებოდა ვირუს პოზიტიური სინჯების იდენტიფიკაცია (Lewis et al, 2013). იმ შემთხვევაში თუ სინჯში აღმოჩნდებოდა გრიპის ვირუსის მატრიცული გენის სეგმენტი ის ითვლება ა ტიპის გრიპის ვირუს პოზიტიურად. პირველადი დიაგნოსტიკის პროცედურა ტარდებოდა საქართველოში. პოზიტიური სინჯები შემდგომი სექვენირებისათვის იგზავნებოდა ერასმუსის სამედიცინო ცენტრის ვირუსოლოგიის დეპარტამენტში (ჰოლანდია) ან დიდი ბრიტანეთის ცხოველთა და მცენარეთა ჯანმრთელობის სააგენტოს ლაბორატორიაში (დიდი ბრიტანეთი). პირველ ეტაპზე პოზიტიური სინჯების შემოწმება RRT-PCR მეშვეობით ხდებოდა

ფრინველის გრიპის მაღალპათოგენურ H5 და H7 ქვეტიპების არსებობაზე. H5 და H7 პოზიტიური სინჯების რეამპლიფიკაცია ხდებოდა რევერს ტრანსკრიპტაზას პჯრ დაწმარებით და დასექვენირებული იყო მაღალპათოგენური და დაბალპათოგენური სინჯების დასადგენად. პოზიტიური სინჯების 200ul მოცულობის ჩათესვა და ინკუბაცია ხდებოდა ქათმის 11 დღის ემბრიონირებულ კვერცხში რათა მომხდარიყო ვირუსის გამრავლება. ჰემაგლუტინაციის ტესტის მეშვეობით ხდებობა HA ქვეტიპის დადგენა. შემდგომ ხდებოდა დასნებოვნებული კვერცხიდან ვირუსის მოპოვება, რნმ–ს გამოყოფა და HA და NA სეგმენტების სექვენირება(Lewis et al, 2013).

HA და NA სეგმენტების სექვენირებისათვის ვირუს პოზიტიური სინჯებიდან გამოყოფილი პჯრ პროდუქტი გაიწმინდა Qiagen Quiaquick Gel ექსტრაქციის ნაკრების მეშვეობით. სექვენირება განხორციელდა BigDye terminator სექვენირების ნაკრები v3.1 -გამოყენებით (GE Healthcare Life Sciences, დიეგენი, ბელგია) და 3130x1 გენეტიკური ანალაიზერით (Applied Biosistems, კალიფორნია, აშშ), მწარმოებლის პროტოკოლის მიხედვით (Lewis et al, 2013).

საქართველოში მოპოვებული სინჯებიდან მიღებულ რნმ თანამიმდევრობებს დავუმატეთ თანამიმდევრობები ევრაზიის სხვადასხვა რეგიონებიდან, რომლებიც ჩამოვტვირთეთ აშშ ალერგიის და ინფექციური დაავადებების ეროვნული ინსტიტუტის მონაცემთა ბაზიდან (Squires et al, 2012). ჩამოტვირთული სინჯები ეკუთვნოდა მხოლოდ გარეულ ფრინველებს და არ იყო შინაური ფრინველების ეპიდემიების შედეგად მიღებული.

ფილოგენიის დასადგენად გამოვიყენეთ მაქსიმუმ ლაიკლიჰუდის ალგორითმი პროგრამა PAUP- ის მეშვეობით (Swofford, 2003). გამოვიყენეთ GTR+I+F4 . მოდელი მოდელის შერჩევა მოხდა ModelTest- ის მეშვეობით (Posada & Crandall, 1998).

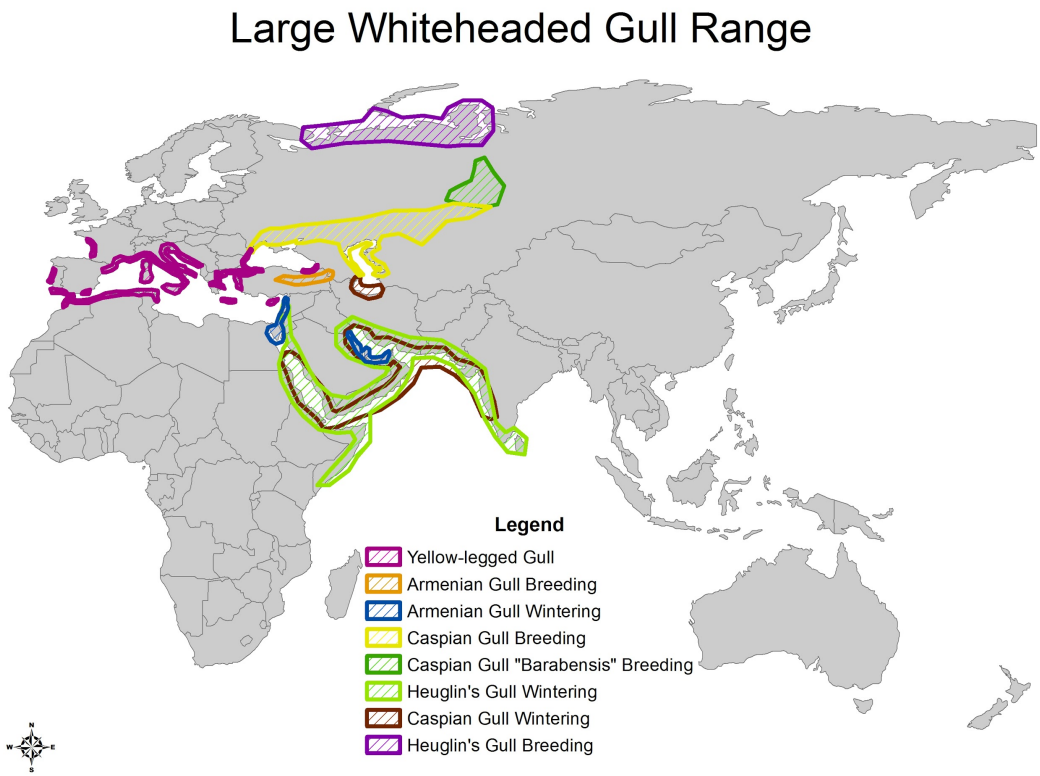
ვირუსოლოგიურ სინჯებთან ერთად მოვიპოვებდით სეროლოგიურ სინჯებსაც. 0.5–1.0 მლ ვენური სისხლის მოპოვება ხდებოდა ტარსალური ან ბრაქეალური ვენიდან. სისხლს ვათავსებდით სპეციალურ სინჯარაში რომელშიც იყო გელ სეპარატორი. ცენტრიფუგის მეშვეობით გამოვყოფდით შრატს რაც გამოიყენება სეროლოგიური ანალიზისათვის. სეროლოგიური ტესტირების მიზანი იყო დაგვედგინა სისხლში ნუკლეოპროტეინზე ანტისხეულების არსებობა, რაც მიანიშნებს გადატანილ გრიპის ინფექციაზე (Lewis et al, 2013).

თავი 3. შედეგები

ქვეთავი 3.1 დიდი თეთრთავა თოლიის სახეობათა კომპლექსის გადაადგილების შესწავლა მოლეკულურ გენეტიკური მეთოდის გამოყენებით

შესავალი

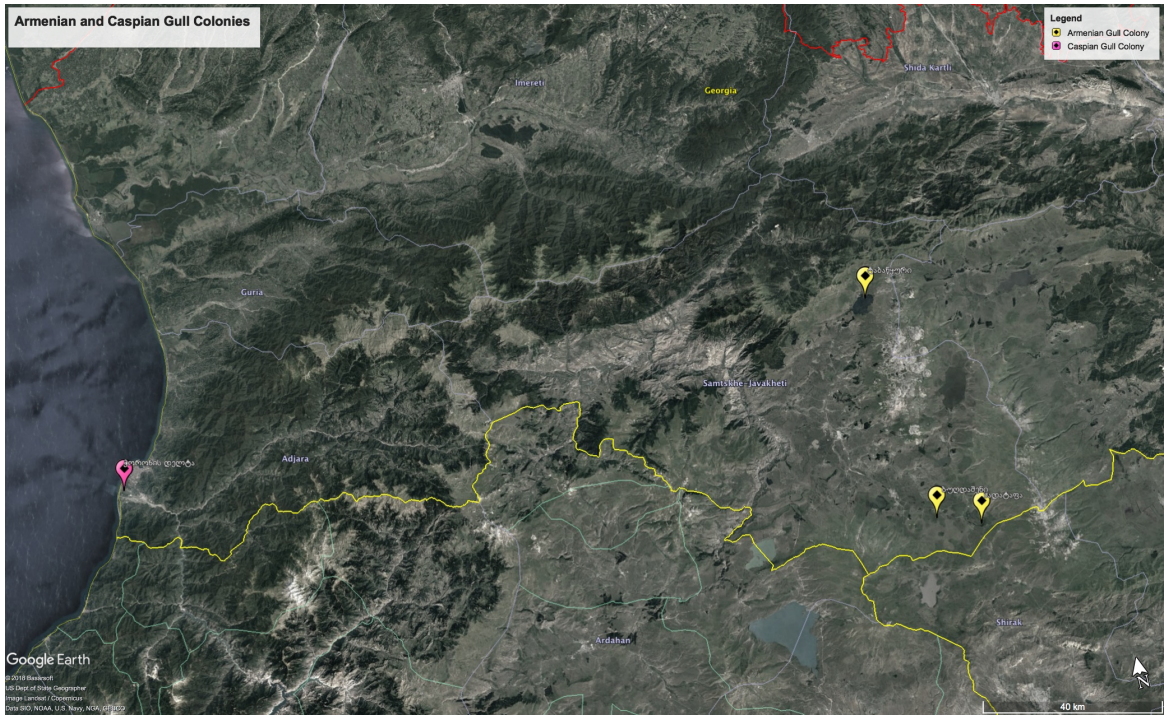
დიდი თეთრთავა თოლიების სახეობათა კომპლექსი (*L. argentatus – L. cachinnans* ჯგუფი) 15 მდე სახეობისაგან შედგება და ცირკუმპოლარული გავრცელება ახასიათებს (რუკა 6). საქართველოში ბუდობის , ზამთრობის და გადაფრენებისას გვხვდება 7 სახეობა: *Larus cachinnans, L. michahellis, L. armenicus, L. barabensis, L. fuscus, L. heugleni, L. marinus (*რუკა6).



რუკა 6. დიდი თეთრთავა თოლიების სახეობათა კომპლექსის ბუდობის და ზამთრობის არეალები

ამ სახეობის ფრინველთაგან მხოლოდ 2 სახეობა (*L. armenicus, L. cachinnans*) ბუდობს საქართველოს ტერიტორიაზე. L. armenicus ბუდობს ჯავახეთის ზეგანის ტბებზე (რუკა 7) ხოლო *L. cachinnans* მდ. ჭოროხის ზღვასთან

შესართავში (რუკა 7). დანარჩენი სახეობები საქართველოში მხოლოდ გადაფრენებსა და ზამთრობისას გვხვდება.



რუკა 7. მობუდარი სომხური და კასპიური თოლიის კოლონიები საქართველოში

შავი ზღვის აღმოსავლეთ სანაპიროზე იზამთრებს შავი და აზოვის ზღვის ანჩოუსის (*Engraulis encrasicolus*) პოპულაციათა უდიდესი ნაწილი (Chashchin, 1996). ამის გამო შავი ზღვის აღმოსავლეთ სანაპიროს თოლიის აღნიშნული სახეობებისათვის დიდ მნიშვნელობა აქვს. ყოველ ზამთარს შავი ზღვის აღმოსავლეთ სანაპიროზე ასი ათასობით დიდი თეთრთავა თოლია იყრის თავს. მორფოლოგიური ნიშანთვისებებით ამ სახეობების (*Larus cachinnans, L. michahellis, L. armenicus, L. barabensis,L. heugleni)*, განსაკუთრებით ახალგაზრდა ინდივიდების, გარჩევა მნიშვნელოვან სირთულეს წარმოადგენს. მდგომარეობას ართულებს ისიც, რომ ამ ფრინველებში მიმდინარე ჰიბრიდიზაცია და ინტროგრესია წარმოშობს ბევრ გარდამავალი ფენოტიპის ინდივიდს (Guy et al, 2007). მიუხედავად იმისა, რომ ეს ფრინველები ზამთრობისას ერთ, შედარებით მცირე ზომის ტერიტორიაზე კონცენტრირდებიან, მათი საბუდარი ტერიტორია

გეოგრაფიულად უფრო იზოლირებულია (Olsen, 2003; Liebers et.al. 2004)(რუკა 8).

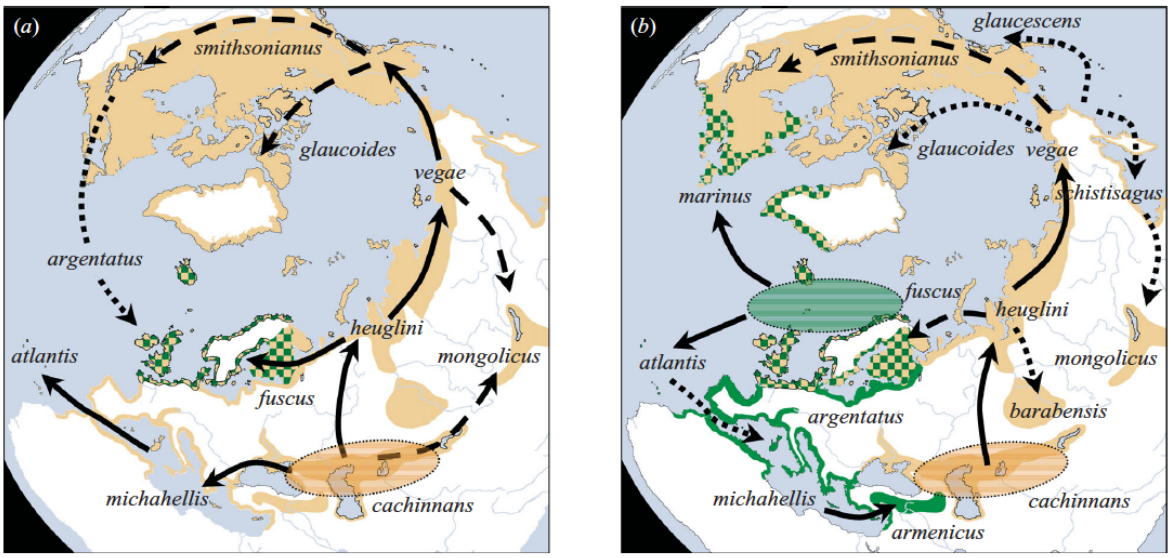
რუკა 8. დიდი თეთრთავა თოლიის სახეობათა კომპლექსის გავრცელება პალეარქტიკაში (Liebers et.al. 2004).

წრიული სახეობათა წარმოშობის მაგალითად ხშირად მოიხსენიებენ დიდი თეთრთავა თოლიების ჯგუფს (*L. argentatus – L. cachinnans* ჯგუფი). ამ ჯგუფში ერთიანდება 15 მდე ტაქსონი და გააჩნიათ ცირკუმპოლარული გავრცელება. ტაქსონები განსხვავდებიან სხეულის ზომით, ზურგის და ფრთის ზედა მფარავების შეფერილობით (Mayr, 1942). არსებობს დიდი

თეთრთავა თოლიების ჯგუფის მიერ პალეარქტიკის კოლონიზების ორი ჰიპოთეზა:

a) მაირის წრიული სახეობის ჰიპოთეზა; რომლის მიხედვითაც არსებობდა ერთი არალო-კასპიური რეფუგიუმი რომლიდანაც მოხდა დიდი თეთრთავა თოლიების ჯგუფის მიერ პალეარქტიკის კოლონიზება და ჩრდილოეთ ამერიკიდან შედარებით თანამედროვე შემოსვლა *L. argentatus* - ის ჩრდილოეთ ევროპაში და მეორადი კონტაქტი *L. fuscus* თან (რუკა 9)

b) დიდი თეთრთავა თოლიების სახეობათა ჯგუფის თანამედროვე განაწილება აიხსნება ორი რეფუგიუმის ასებობით და ამ რეფუგიუმებიდან პოსტგლაციალური კოლონიზებით. ამ ჰიპოთეზის თანახმად არსებობს ორი რეფუგიუმი არალო-კასპიური და ატლანტური. ატლანტურ რეფუგიუმიდან სხვადასხვა კოლონიზაციის მოვლენის შედეგად მოხდა *L. marinus* და *L. atlantis* წარმოშობა შემდგომ კი კიდევ ორი დამოუკიდებელი კოლონიზაციის მოვლენის შედეგად მოხდა ჯერ *L. armenicus* - ის ხოლო შემდეგ *L. michahellis* - ის წარმოშობა. არალო-კასპიური რეფუგიუმიდან კი მოხდა *L. cachinnans* -ის ჯგუფის თოლიების განსახლება ჩრდილო არმოსავლეთით (რუკა9).



რუკა 9. დიდი თეთრთავა თოლიების სახეობების წარმოშობის ჰიპოთეზები; a) მაირის წრიული სახეობის ჰიპოთეზა, b) ორი რეფუგიუმის ჰიპოთეზა(Liebers et.al. 2004).

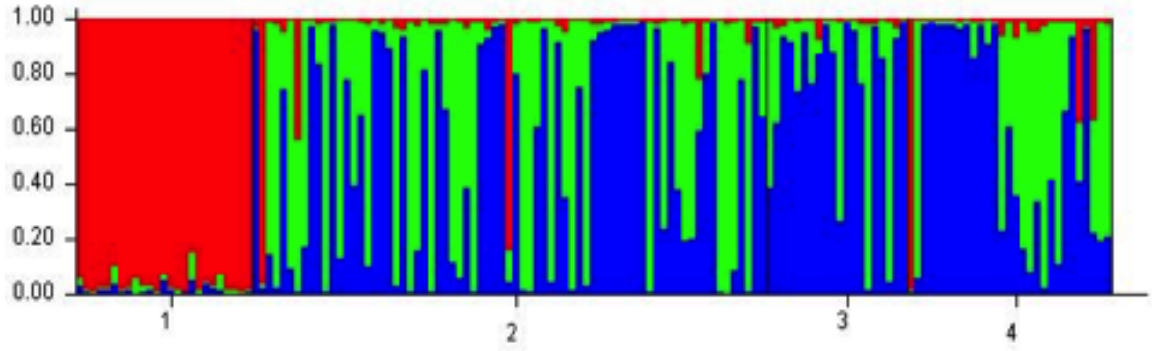
თოლიები ყოველ წელს ახდენენ დიდ მანძილზე გადაფრენას გამოსაზამთრებელი ტერიტორიებისკენ. გამოსაზამთრებელ ტერიტორიაზე თოლიები სხვადასხვა მობუდარი პოპულაციიდან ერთად იყრიან თავს, მიუხედავად მათი მეტნაკლებად იზოლირებული საბუდარი გავრცელებისა. ეს პერიოდი განსაკუთრებულად მნიშვნელოვანია ფრინველთა დაავადებების, განსაკუთრებით ფრინველის გრიპის ვირუსის გავრცელებასა და ევოლუციაში. თოლიების და სხვა ზღვის ფრინველების ბუდობის შემდგომი გადაადგილებები ხშირად არ არის დომინანტურად ჩრდილოეთ სამხრეთის მიმართულების ხშირად ის დამოკიდებულია საკვები ბაზის კონცენტრაციის ადგილებზე და შეიძლება ყველა მიმართულებით მიმდინარეობდეს. მაგალითად: ხმელთა შუა ზღვისპირეთში მობუდარი ქარიშხალა შავი ზღვის აღმოსავლეთ სანაპიროზე ზამთრობს რადგან სწორედ აქ ზამთრობს მისი ძირითადი ზამთრის საკვები - ანჩოუსი (*Engraulis encrasicolus*).

ჩემი კვლევის მიზანი იყო დაგვედგინა: ა) შავი ზღვის მოზამთრე თოლიების მიკუთვნება დასავლეთ პალეარქტიკის, დასავლეთ და ცენტრალური აზიის თოლიის სახეობებთან; ბ) მიგრაციის დომინანტური მიმართულებების გამოვლენა; გ) სომხური თოლიის შავი ზღვისპირეთში ზამთრობის შესაძლებლობა.

მიკროსატელიტური გენოტიპირება

ჯავახეთის ზეგანზე მობუდარი და შავი ზღვის სანაპიროზე მოზამთრე დიდი თეთრთავა თოლიების გენეტიკური სტრუქტურის ანალიზმა მიკროსატელიტური მარკერებით აჩვენა სარწმუნო იზოლაცია შავი ზღვის მოზამთრე და ჯავახეთის ზეგანის მობუდარ პოპულაციებს შორის (RST= 0.08; d.f. =24; P= 0.00). ჩვენ დავყავით სინჯები #1 შავი ზღვის მოზამთრე პოპულაციად, #2 მადატაფის მობუდარი კოლონია, #3 არპის მობუდარი კოლონია და #4 სევანის მობუდარი კოლონია. შედეგად მივიღეთ 2 იზოლირებული პოპულაცია, შავი ზღვის სინჯების 96% დაჯგუფდა

თავისივე ჯგუფის თოლიებთან ხოლო ფრინველები 3 მობუდარი კოლონიიდან უფრო პანმიქტურია (სურათი 17).

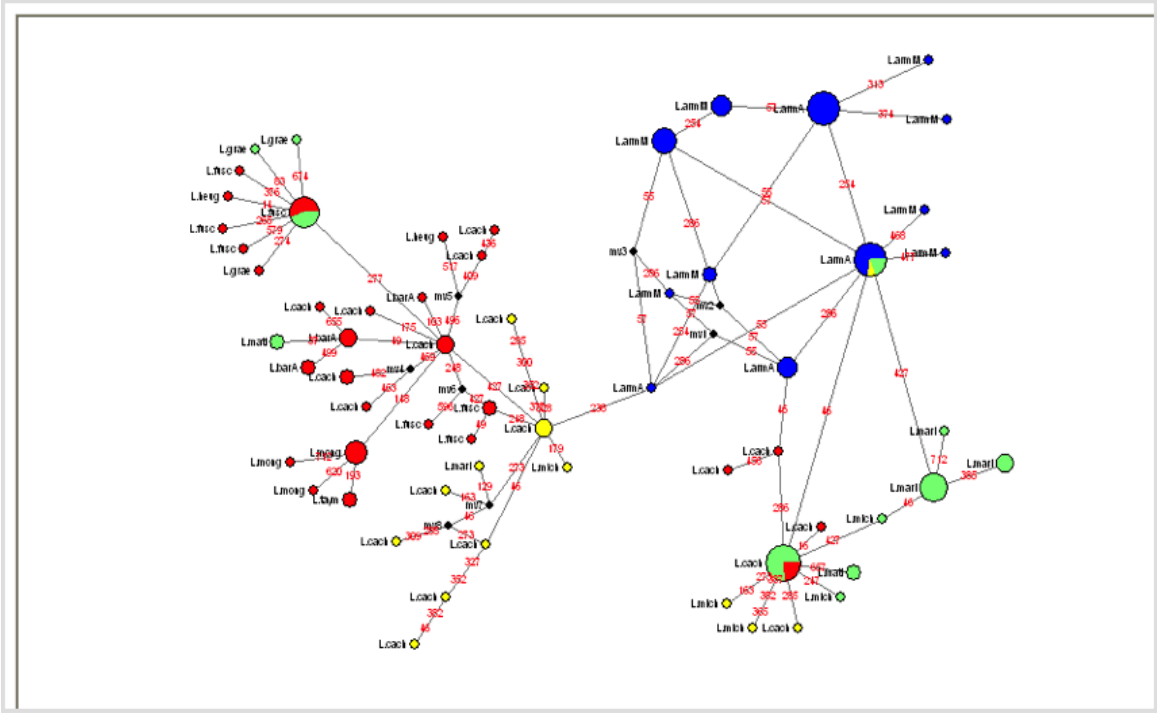


სურათი 17. STRUCTURE-ს ალგორითმის გამოყენებით ბეიზიანი მოდელირების მეშვეობით მიღებული თოლიების განაწილება პანმიქტურ პოპულაციებს შორის. K= 3 (ოპტიმალური მნიშვნელობა). ინდივიდები: #1 შავი ზღვის მოზამთრე პოპულაციიდან, #2 მადატაფის მობუდარი კოლონია, #3 არპის მობუდარი კოლონია და #4 სევანის მობუდარი კოლონიებიდან. სურათიდან ჩანს, რომ შავი ზღვის მოზამთრე პოპულაცია გენეტიკურად გამოყოფილია ყველა კონტინენტალური მობუდარი პოპულაციისგან, ამავდროულად მობუდარი თოლიების სხვადასხვა კოლონიები ერთმანეთისგან არაა გამოყოფილი და ერთიან პანმიქტურ პოპულაციას წარმოადგენენ.

ფილოგენეტიკური ანალიზი

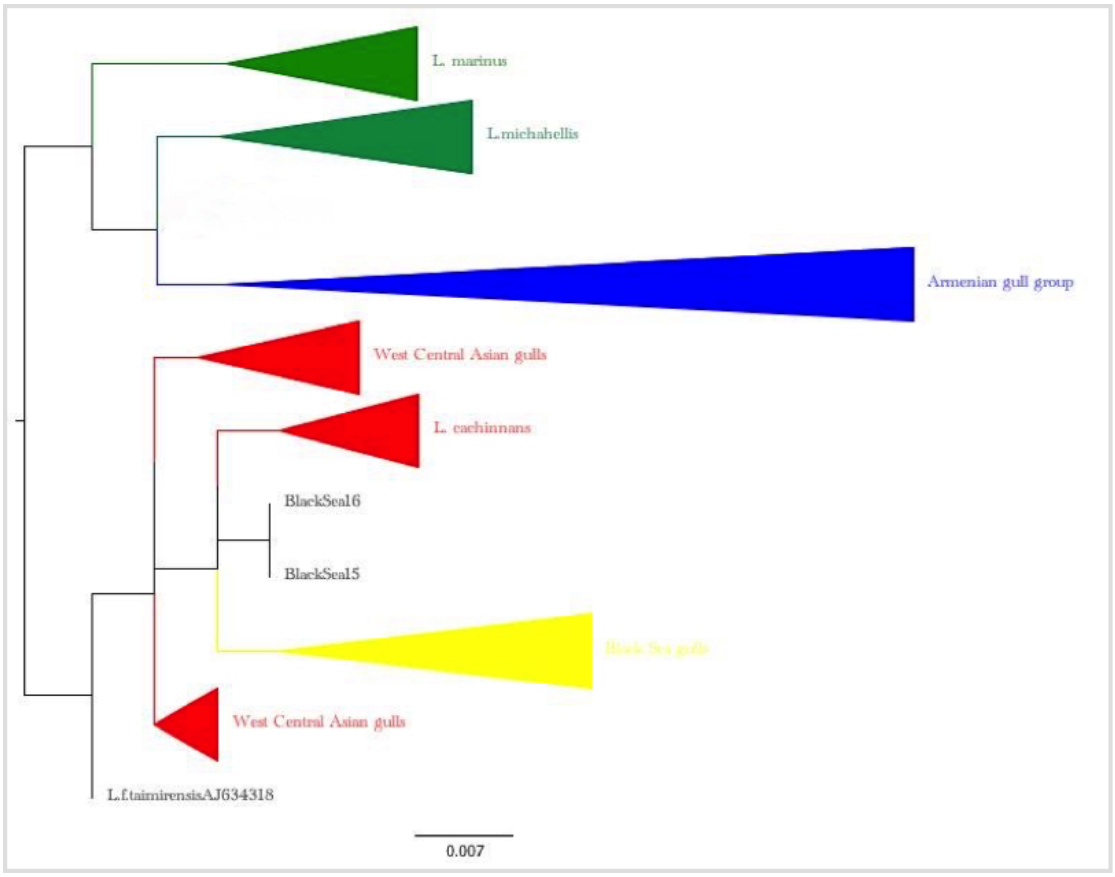
ანალიზის მიზანი იყო დაგვედგინა: ა) შავი ზღვის მოზამთრე თოლიების პოპულაციის მიკუთვნება დასავლეთ პალეარქტიკის, დასავლეთ და ცენტრალური აზიის თოლიის სახეობებთან; ბ) შავი ზღვის მოზამთრე პოპულაციის თოლიების კონკრეტული ინდივიდების მიკუთვნება კონკრეტულ მობუდარ გეოგრაფიულ პოპულაციასთან.

ციტოქრომ ბ 735 bp მედიან ჯოინინგის ანალიზმა მიაკუთვნა 75% შავი ზღვის მოზამთრე პოპულაციის სინჯებისა დასავლეთ ცენტრალური აზიის ჯგუფს, 18.75% ატლანტურ-ხმელთაშუაზღვისპირეთის ჯგუფს ხოლო 6.25% ჯავახეთის ზეგანის სომხური თოლიების ჯგუფს (სურათი 18).



სურათი 18. Minimum spanning haplotype network- ი Network 4.2.0.1. წრის ზომა პროპორციულია მოხვედრილი ჰაპლოჯგუფების რაოდენობის. წითელი ციფრებით აღნიშნულია ნუკლეოტიდური ცვლილების პოზიცია. წრეების ფერები აღნიშნავს: მწვანე - ატლანტურ-ხმელთაშუაზღვისპირული ჯგუფი; წითელი - დასავლეთ-ცენტრალურ აზიური ჯგუფი; ყვითელი - შავი ზღვის ჯგუფი და ლურჯი - სომხური თოლიის ჯგუფი. შავი რომბებით აღინიშნება ნავარაუდები მაგრამ სინჯში არ არსებული ჰაპლოჯგუფები.

დიდი თეთრთავა თოლიების ჯგუფის ფილოგენია აღვადგინეთ მიტოქონდრიული დნმ - ს საკონტროლო რეგიონის და ჰიპერ ვარიაბელური უბან I - ს გამოყენებით. ანალიზისათვის გამოვიყენეთ მაქსიმუმ ლაიქლიჰუდი და ბეიესისეული ანალიზი. ყველა შავი ზღვის მოზამთრე თოლიის სინჯი გაერთიანდა L. cachinnans – ის ჯგუფთან; მობუდარი სომხური თოლიის სინჯებში შეიმჩნევა ჰაპლოჯგუფური მრავალფეროვნება თუმცაღა ჯგუფდება სხვა სომხურ თოლიებთან (სურათი 19).



სურათი 19. მაქსიმუმ ლაიქლიჰუდის მეთოდით აგებული ფილოგენეტიკური ხე. მწვანე - ატლანტურ-ხმელთაშუაზღვისპირული ჯგუფი *L. michahellis, L. atlantis, L. marinus;* წითელი - დასავლეთ - ცენტრალურ აზიური ჯგუფი *L. cachinnans, L. barabensis, L. heuglini, L, mongolicus and L. fuscus;* ყვითელი - შავი ზღვის მოზამთრე თოლიების ჯგუფი; ლურჯი - სომხური თოლიების ჯგუფი.

ქვეთავი 3.2 გარეული იხვის მიგრაციის შესწავლა მოლეკულურ გენეტიკური მეთოდების გამოყენებით

შესავალი

წყალმცურავი ფრინველები, რიგი *Aseriformes*, არის გარეულ ფრინველთა ფართოდ გავრცელებული ჯგუფი. რიგი შედგება 180 მდე სახეობისაგან, რომელნიც გავრცელებულნი არიან მთელს დედამიწაზე ანტარქტიდის გარდა.

წყალმცურავ ფრინველთა შორის ყველაზე ფართოდ გავრცელებული და მრავალრიცხოვანი სახეობა არის გარეული იხვი (*Anas platyrhynchos*). ეს სახეობა ბუნებრივად ჩრდილოეთ ნახევარსფეროზე იყო გავრცელებული, თუმცა მისი ინტროდუქცია მოხდა სამხრეთ ნახევარსფეროზე, სადაც წარმატებულად გამრავლდა და მრავალრიცხოვან სახეობას წარმოადგენს. ამ სახეობის წარმატებას განაპირობებს მისი მაღალი ადაპტაციის უნარი სხვადასხვა გარემო პირობებთან და ადამიანთან სიახლოვეზე ტოლერანტულობა. სწორედ ამ თვისებების გამო ადამიანმა მოიშინაურა გარეული იხვი და დღეისათვის შინაურ ქათამთან ერთად ყველაზე მრავალრიცხოვანი შინაური ფრინველია დედამიწაზე. ბუნებრივად ფართო გავრცელების გამო გარეული იხვის პოპულაციები განსხვავდებიან მიგრაციის სტრატეგიით. ჩრდილოეთით მობუდარი გარეული იხვის პოპულაციები მიგრირებენ დიდ დისტანციაზე მაშინ როდესაც სამხრეთ და ცენტრალური პოპულაციები უმეტესად რეზიდენტები არიან (Kraus 2011, Scott, 1996). საინტერესოა, რომ გარეული იხვის მიგრანტ პოპულაციებს, სხვა იხვის სახეობებისგან განსხვავებით, არ ახასიათებთ მკვეთრად გამოხატული სამიგრაციო მარშრუტები მაშინაც კი როდესაც მათი საბუდარი და გამოსაზამთრებელი ტერიტორიები ათასობით კილომეტრითაა დაშორებული (Kulikova et al, 2005). გარეული იხვი მნიშვნელოვანი სახეობაა, როგორც ჭარბტენიანი ტერიტორიების

კონსერვაციისათვის ასევე წარმოადგენს ყველაზე მნიშვნელოვან საბეობას წყალმცურავ ფრინველებზე ნადირობისათვის. უმეტესობა ქვეყნებში სწორედ გარეული იხვია მთავარი სანადირო წყალმცურავი ფრინველი და მათი პოპულაციების მართვას ამ მიზნით დიდი ძალისხმევა ეთმობა (Elmberg, 2009; Laikre, 2006).

გარეული იხვი მრავალრიცხოვანი სახეობაა. მისი გლობალური პოპულაციის რიცხოვნობა დაახლოებით 19 მილიონი ინდივიდია საიდანაც დაახლოებით 7 მილიონი ევროპაში ბუდობს ხოლო 10 მილიონზე მეტი ჩრდილოეთ ამერიკაში. აზიის პოპულაციის რიცხოვნობა და მათი გადაადგილება უფრო ცუდად არის შესწავლილი (Wetlands International 2012, Ducks Unlimited 2017)

დიდი რიცხოვნობის და ფართო გავრცელების გამო გარეულ იხვზე ნადირობა პოპულარულია ჩრდილოეთ ნახევარსფეროში. ამის გამო სამონადირეო მეურნეობებში ხშირად ხდება მათი ტყვეობაში გამრავლება და ბუნებაში გაშვება. ცნობილია რომ აშშ–ში ყოველწლიურად დაახლოებით 270 000 ფრინველს უშვებენ, ხოლო ევროპაში 2 850 000 (USFWS 2003, 2011,Delany and Scott 2006; Birdlife-International 2004; Champagnon 2011).

გარეული იხვი მეტწილად მიგრანტი სახეობაა თუმცა ზოგიერთი პოპულაცია მობინადრეა. მიგრანტ პოპულაციებში ერთიანი მკაცრად განსაზღვრული სტრატეგია და გამოსაზამთრებელი ადგილები არ არსებობს და სეზონების განმავლობაში იცვლება. მიგრაციის სტრატეგიას განაპირობებს საკვების მისაწვდომობა და კლიმატური პირობები(Cramp et al. 1985; Drilling et al. 2002).

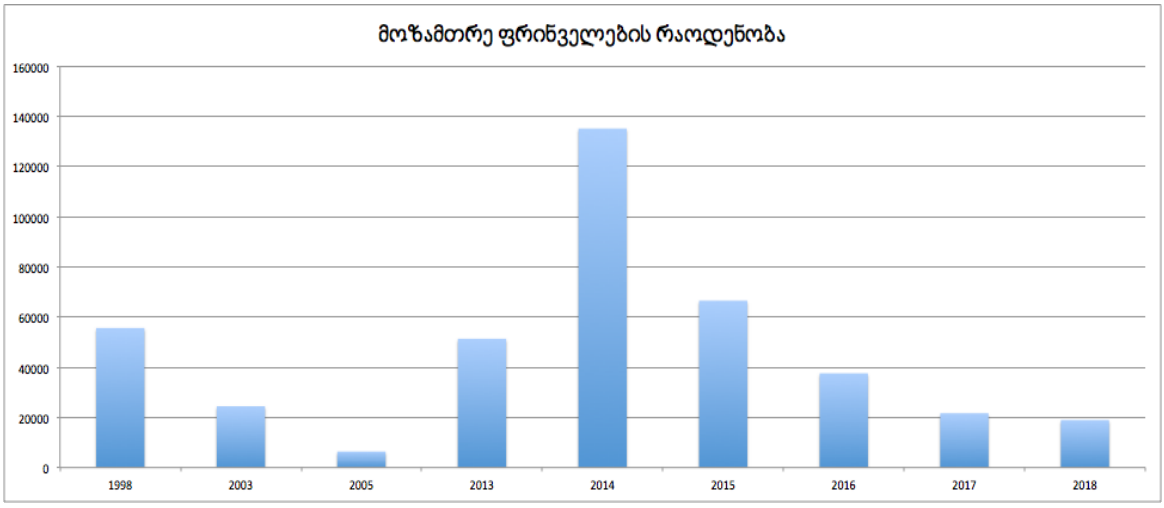
ფიქრობენ, რომ მდედრები არიან გამოჩეკის ადგილისადმი მეტად ფილოპატრულები ვიდრე მამრები. გარეული იხვების წყვილები დგება გამოსაზამთრებელ ტერიტორიებზე საიდანაც მდედრები მიფრინავენ თავიანთი გამოჩეკის ადგილებისაკენ და მათ მიჰყვებიან მამრები, რომლებიც შეიძლება სხვა მობუდარი პოპულაციიდან იყოს. ასეთი

შეწყვილების სისტემა ხელს უწყობს პოპულაციებს შორის გენთა მიმოცვლას. გენეტიკური კვლევები აჩვენებს თითქმის არ არსებულ იზოლაციას კონტინენტალურ პოპულაციებში და შედარებით მაღალ იზოლაციას კონტინენტებს შორის (Cramp and Simmons 1977; Drilling et al. 2002; Kraus et al. 2011).

როგორც კვლევები აჩვენებს გარეული იხვი არის მთავარი რეზერვუარი და გადამტანი ფრინველის გრიპის ვირუსის (Kaleta et al. 2005). ვარაუდობენ, რომ ტბის თოლიასთან ერთად გარეული იხვი განაპირობებს ფრინველის გრიპის დინამიკას ევრაზიაში და გავრცელებას ევრაზიიდან ჩრდილოეთ ამერიკის კონტინენტზე (Edgel, 1984; Koehler et al, 2008; Ramey et al, 2011). გრიპის ვირუსის გავრცელების რისკის შესაფასებლად აუცილებელია გარეული იხვის გადაადგილების, დისპერსიის და ეკოლოგიის უკეთ შესწავლა.

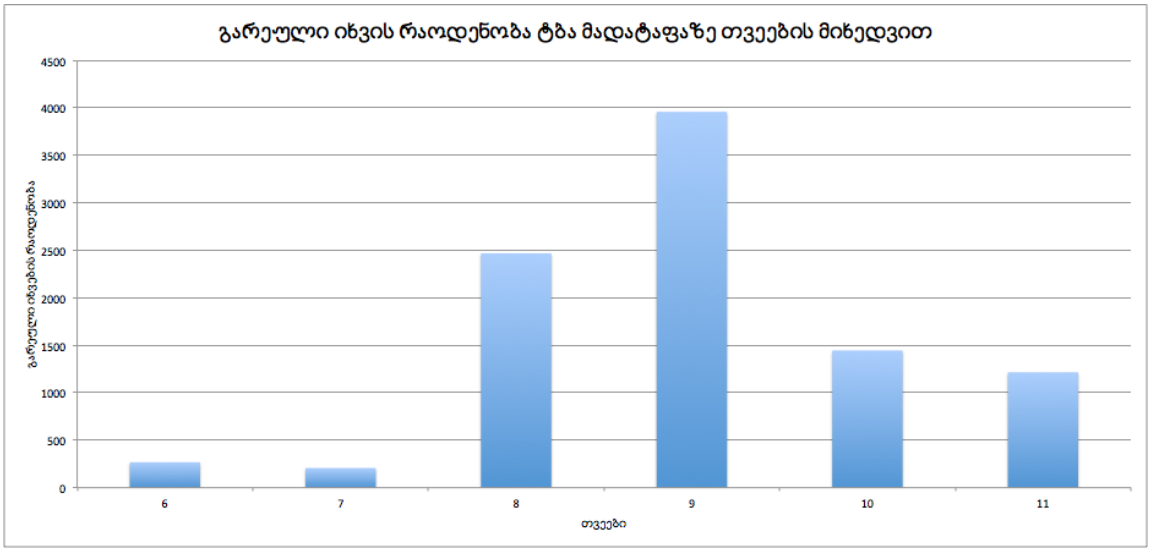
ავისმა 1999 წელს შეისწავლა გარეული იხვის მიტოქონდრიული სტრუქტურა და გამოთქვა ვარაუდი რომ არსებობდა ორი ძირითადი ჰაპლოტიპი ა და ბ (Avis, 1990) . შემდგომმა კვლევებმა დაადასტურა რომ გარეული იხვების გლობალური პოპულაცია შედგება ორი ძირითადი ჰაპლოჯგუფისაგან და ჰაპლოჯგუფი ა გავრცელებულია ევრაზიაში და ჰაპლოჯგუფი ბ კი ამერიკაში. იმავე კვლევებმა აჩვენა რომ ა ჰაპლოჯგუფი გვხვდება ძირითადად ევრაზიაში და მცირე ოდენობით ამერიკის კონტინენტზე, ხოლო ბ ჰაპლოჯგუფი გვხვდება ძირითადად ამერიკაში და მხოლოდ მცირე რაოდენობით უკიდურეს აღმოსავლეთ აზიაში. ამავე კვლევებში ივარაუდეს რომ ბ ჰაპლოჯგუფის არსებობა უკიდურეს აღმოსავლეთ აზიურ გარეულ იხვებში არის აღმოსავლურ ხალიან–ნისკარტა იხვთან ინტროგრესიის შედეგი (Kulikova 2005, Kraus 2011). კრაუსის კვლევის შედეგად დადგინდა, რომ გარეული იხვების გენეტიკური სტრუქტურა და ამ სახეობის დისპერსია არ არის განპირობებული ევრაზიაში წყამცურავ ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტების დადგენილი სტრუქტურით (რუკა #2) (Kraus et al, 2011).

საქართველოში, კვლევები მობუდარ, მიგრანტ და მოზამთრე გარეული იხვის გადაადგილებებზე მწირია. ჩვენ გადავწყვიტეთ შეგვესწავლა გარეული იხვის მიგრაციები და საქართველოს მთავარ წყალსატევებზე მოზამთრე გარეული იხვის პოპულაციათა კავშირი ერთმანეთთან, ეროპულ, აზიურ და საქართველოში მობუდარ გარეული იხვის პოპულაციებთან. ჩვენ ასევე ვატარებთ მოზამთრე გარეული იხვის სისტემატურ აღრიცხვებს შავი ზღვის სანაპიროს ძირითად წყალსატევებზე. აღრიცხვები არასისტემატურად ტარდებოდა 1998 წლიდან, ხოლო სისტემატიურად 2013 წლიდან. მოზამთრე გარეული იხვის რიცხოვნობის დინამიკას ასახავს სურათი 20.



სურათი 20. მოზამთრე გარეული იხვის რიცხოვნობა წლების მიხედვით

ასევე ვაკვირდებით მობუდარი და მიგრანტი გარეული იხვის დინამიკას ჯავახეთის ზეგანის ტბებზე. გრაფიკ 4 ზე მოცემულია 2014 წელს მადატაფის ტბაზე გარეული იხვის რიცხოვნობის დინამიკა თვეების მიხედვით ბუდობის ბოლო პერიოდიდან (ივლისი) ზამთრის დადგომამდე (დეკემბერი).



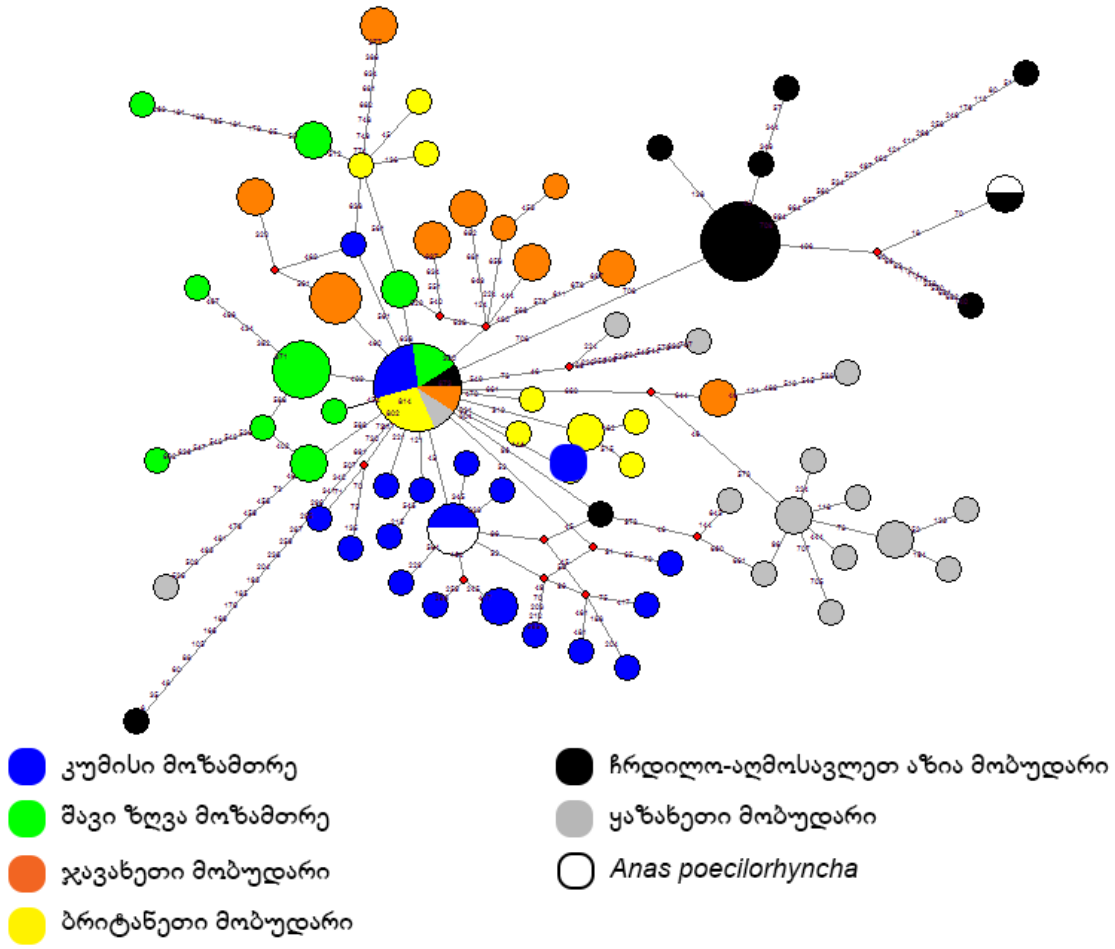
სურათი 21. გარეული იხვის რიცხოვნობის დინამიკა მადატაფის ტბაზე თვეების მიხედვით 2014 წელი.

მიღებული შედეგები

ფილოგენეტიკური ხე ავაგეთ 133 სინჯის, მიტოქონდრიული დნმ-ს საკონტროლო რეგიონის 935 bp სეგმენტის მეშვეობით. გამოვიყენეთ ბეიესისეული მეთოდი, რომლის მეშვეობითაც ვერ მოხერხდა კლადებს შორის ურთიერთდამოკიდებულების სარწმუნოდ დადგენა. გაუსისეული შე რევის პარამეტრული მოდელმა იერარქიული დაჯგუფებით, ჩვენს მიერ აღებულ და ჩამოტვირთულ სინჯში, აჩვენა ორი კლადის არსებობა A და B (სურათი 22).

B კლადაში შევიდა იხვები მხოლოდ ყაზახეთის სინჯიდან ხოლო A კლადაში დარჩენილი ყაზახეთის და ჩვენი სინჯის ყველა სხვა გარეული იხვი (ბრიტანეთის მობუდარი, შავი ზღვის მოზამთრე, ჯავახეთის მობუდარი, კუმისის მოზამთრე, არხანგელსკის (ჩრდილოეთ რუსეთი) მობუდარი და ასტრახანის (სამხრეთ რუსეთი)).

მედიან ჯოინინგ ნეთვორქის მეშვეობით გაკეთებულმა ჰაპლოტიპების ანალიზმა მოგვცა სურათი რომელიც მოცემულია სურათ 22 ში. სქემაზე ჩანს რომ ძირითადი მობუდარი პოპულაციებიდან აღებული სინჯები ქმნიან კლასტერებს თუმცა კლასტერები სუსტია. ჰაპლოჯგუფების უმრავლესობა არის ყველაზე დიდ ცენტრალურ კლასტერში



სურათი 22. მინიმალური გაშლის ჰაპლოტიპების ნეთვორქი (Minimum spanning haplotype network) შედგენილი Network 5.0 (Bandelt et al., 1999). წრეების ზომები არის სინჯების რაოდენობის პროპორციული ციფრები აღნიშნავს სექვენსის დასაწყისიდან თუ რომელ ნუკლეოტიდზეა ცვლილება

ბირთვული დნმ -ს შესწავლამ გამოავლინა შვიდი მარკერი (Apl11, Apl12, Apl14, Apl26, Apl36, Apl2, Caud13, Caud24) რომელიც იყო ინფორმატიული და ორი მარკერი (Caud13, Apl23) რომელიც არ იყი ინფორმატიული. ერთი მარკერი Caud 24 ამოვიღეთ ანალიზიდან მრავლობითი გამოტოვებული ნუკლეოტირების გამო. ფიქსაციის ინდექსი ორივე მარკერების სისტემისათვის იყო თანაბარი (0.09). ეს პარამეტრები წარმოდგენილია ცხრილში 5

პოპულაცია	N	A	HE	S.d1	HO	S.d2
ბრიტანეთი	14	7	0.8		0.5	
ჯავახეთი	80	20.0	0.89	0.06	0.6	0.13
კუმისი	22	14.5	0.89	0.06	0.57	0,2
შავი ზღვა	37	20.3	0.9	0.04	0.61	0.12
ყაზახეთი	40	15.3	0.88	0.5	0.57	0.16

ცხრილი 5. სტანდარტული გენეტიკური მრავალფეროვნების ინდექსები ყველა პოპულაციისათვის; N - სინჯის ზომა; A- ალელების საშუალო რიცხვი 9 ლოკუსზე; AE- ალელების ეფექტური რიცხვი; HE - მიუკერძოებელი მოსალოდნელი ჰეტეროზიგოტურობა; HO - დაკვირვებული ჰეტეროზიგოტურობა; F- ფიქსაციის ინდექსი (ინბრიდინგის კოეფიციენტი); MAF - მინიმალური ალელთა სიხშირე.

პოპულაციათა წყვილების ანალიზმა აჩვენა რომ Fst დაბალი ნიშნულით მაგრამ სარწმუნო იყო ჯავახეთის მობუდარ და შავი ზღვის მოზამთრე პოპულაციებს შორის Fst 0.015 (P = 0.000). დანარჩენ წყვილებში სარწმუნო იზოლაცია არ გამოვლენილა (ცხრილი 6).

პოპულაცია	შავი ზღვა	ბრიტანეთი	ყაზახეთი	კუმისი	ჯავახეთი
შავი ზღვის მოზამთრე	0				
ბრიტანეთის მობუდარი	0.021	0			
ყაზახეთის მობუდარი	0.0047	0.021	0		
კუმისის მოზამთრე	0.007	0.022	0.005	0	
ჯავახეთის მობუდარი	**0.015***	0.019	0.007	0.003	0

ცხრილი 6. პოპულაციათა წყვილების Fst შედარება. * აღინიშნება სარწმუნო კავშირი P<0.05.

ქვეთავი 3.3. გარეულ ფრინველებში ფრინველის გრიპის გავრცელების შესწავლა საქართველოში

შესავალი

ფრინველის გრიპის ვირუსის ბუნებრივი რეზერვუარი წყლის ფრინველები არიან (Fouchier et al, 2005; Stallknecht et al, 1988). უმეტესობა გრიპის ვირუსის ქვეტიპებისა წყალმცურავ ფრინველებში არის დაბალპათოგენური და მხოლოდ სუსტი სუბკლინიკური ინფექციის სახით ვლინდება. ფრინველის ა ტიპის გრიპის ვირუსი 136 სახეობის ფრინველში არის დაფიქსირებული, საიდანაც უმეტესობა Anseriformes და Charadriiformes ჯგუფის ფრინველებს წარმოადგენს (Alexannder, 2000). მიუხედავად იმისა, რომ ფრინველის გრიპის ვირუსის შესწავლა ინტენსიურად მიმდინარეობს, რეზერვუარი სახეობების როლი მის გავრცელებაში, ეკოლოგიასა და ევოლუციაში ჯეროვნად დადგენილი არ არის.

მას შემდეგ რაც სამხრეთ-აღმოსავლეთ აზიაში დაფიქსირდა და დასავლეთით გავრცელდა H5N1 მაღალპათოგენური გრიპის ვირუსი, განსაკუთრებული მნიშვნელობა შეიძინა რეზერვუარი სახეობების, მიგრანტი წყალმცურავების შესწავლამ (Munster et al, 2005; Olsen et al, 2006). ყოველწლიურად მილიონობით მიგრანტი ფრინველი გადაიფრენს კავკასიის ტერიტორიაზე. ამ ტერიტორიაზე 3 ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტი გადაკვეთს ერთმანეთს - ცენტრალურ აზიური, დასავლეთ აზია-აღმოსავლეთ აფრიკის და შავი ზღვა-ხმელთაშუაზღვისპირეთის. საქართველოს ტერიტორიაზე არსებულ წყალსატევებს ასობით ათასი Anseriformes-ი და Charadriiformes-ი იყენებს გადაფრენებისათვის და გამოსაზამთრებლად. მიგრანტ და მოზამთრე ფრინველთა სიუხვე საუკეთესო პირობებს ჰქმნის გრიპის ვირუსის სხვადასხვა გეოგრაფიული წერტილილიდან გავრცელებისა და მიმოცვლისათვის.

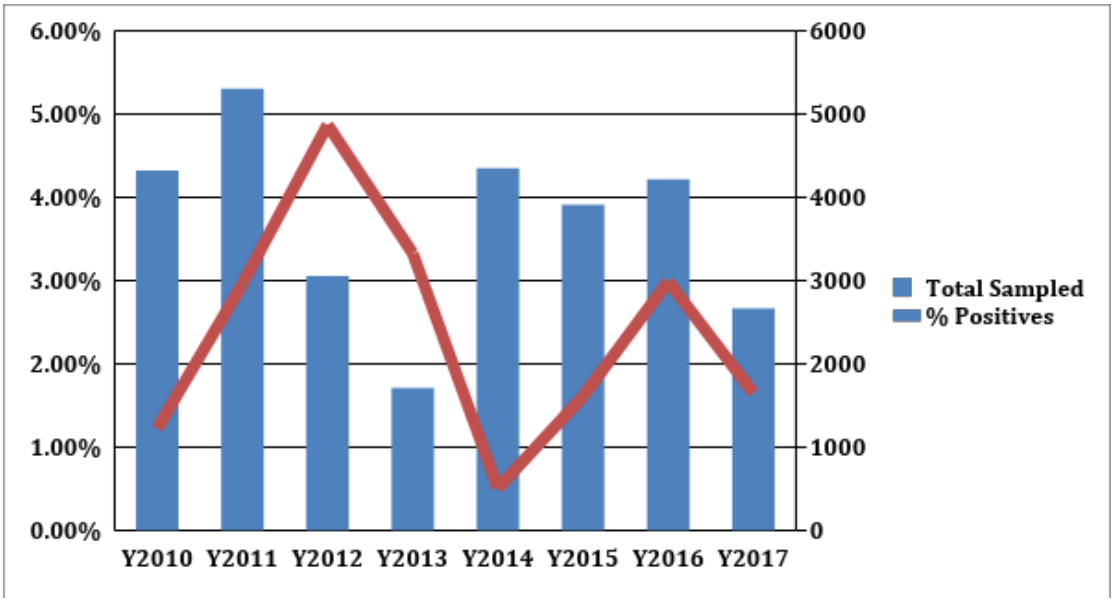
Charadriiformes- ში გრიპის ვირუსის შესწავლა უმეტესად ჩრდილო ამერიკის კონტინენტზე, ჩრდილო-დასავლეთ ევროპაში და რუსეთში მიმდინარეობდა (Karamendin et al, 2011; Iamnikova et al,2009; Rosalia et al,

1984; Pocherniaeva et al, 1979; Kraus et al, 2010; Munster et al, 2007; Velarde et al, 2010). ამ კვლევებით აღმოჩნდა, რომ Charadriiformes-ებს, განსაკუთრებით თოლიებს და მენაპირეებს, რომლებსაც დიდ მანძილზე მიგრაციები ახასიათებთ, ემართებათ H13 და H16 ვირუსები. აღსანიშნავია რომ ეს ვირუსი თითქმის ექსკლუზიურად მხოლოდ თოლიებსა და მენაპირეებში გვხვდება (Fouchier et al, 2005; Chambers et al, 1989). ნაკლებად ცნობილია Charadriiformes ჯგუფის ფრინველთა როლი ფრინველის გრიპის გავრცელებასა და ეკოლოგიაში.

ჩვენ, 2009 წლიდან 2017 წლამდე ვატარებდით გარეულ წყალმცურავ და წყალთანა ფრინველებში ფრინველის გრიპის ვირუსის გავრცელების, ეკოლოგიის და ევოლუციის კვლევას საქართველოს ტერიტორიაზე. ჩვენ შევამოწმეთ ჰიპოთეზა თუ რამდენად ახდენენ ვირუსების მიმოცვლას მიგრანტი ფრინველები სხვადასხვა მობუდარი გეოგრაფიული პოპულაციებიდან. დამატებით ამისა შევარჩიეთ ჯავახეთში, მადატაფაზე მობუდარი სომხური თოლია (Larus armenicus), როგორც სამოდელო სახეობა და დავაკვირდით თუ როგორ ხდება ვირუსის დინამიკა კოლონიურ Charadriformes-ებში.

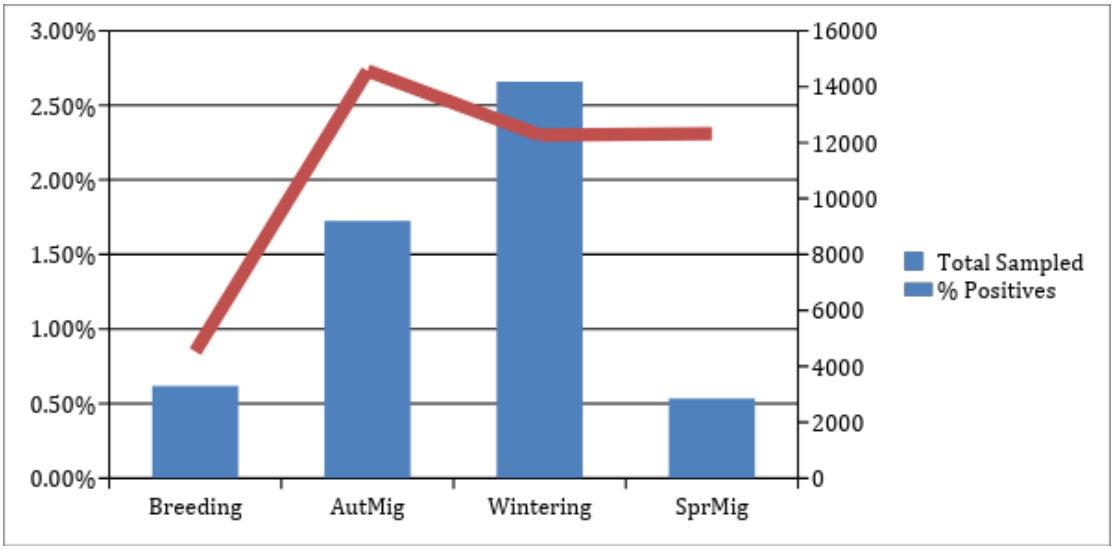
მიღებული შედეგები და მსჯელობა

2009 დან 2017 წლამდე მოვიპოვეთ და ვირუსის არსებობაზე შევამოწმეთ 30 000 მდე სინჯი, 119 სახეობის ფრინველიდან. აღებული სინჯებიდან 28865 (97.73%) აღმოჩნდა უარყოფითი და 671 (2.27%) დადებითი ფრინველის ა ტიპის გრიპის ვირუსის არსებობაზე. სინჯების აღების განაწილება წლების მიხედვით და პოზიტიური სინჯების წილი მოცემულია გრაფიკ#. როგორც გრაფიკიდან ჩანს გრიპის დინამიკა გამოირჩევა ციკლურობით. ციკლის მაქსიმუმებს შორის ისევე როგორც მინიმუმებს შორის 4 წელია. პოზიტიური სინჯების წილი არ არის დამოკიდებული აღებული სინჯების რაოდენობაზე. შემდეგი მინიმუმი 2018 წელს არის მოსალოდნელი, ხოლო მაქსიმუმი 2021 წელს.



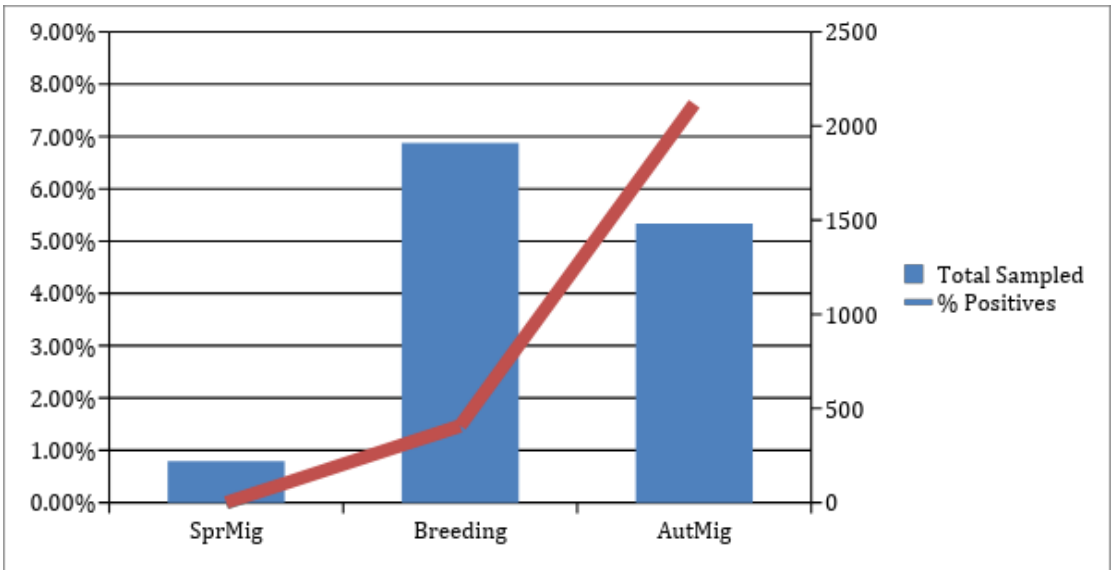
სურათი 23. ფრინველის გრიპის შესასწავლად მოპოვებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი 2010–2017წლები

წყლის ფრინველების უმეტესობა მიგრანტია, ამიტომ მათ მკვეთრად გამოხატული სასიცოცხლო ციკლები გააჩნიათ. მე დავყავი ჩვენს მიერ აღებული სინჯები ბუდობის, საშემოდგომო მიგრაციის, ზამთრობის და საგაზაფხულო მიგრაციის დროს აღებულ სინჯებად და გამოვითვალე პოზიტიური ფრინველების წილი (სურ. 24)



სურათი 24. სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

სინჯების აღება ხდებოდა 4 ტერიტორიიდან, რომელიც განსხვავდება ტერიტორიაზე ფრინველთა დინამიკით. ჯავახეთის ზეგანზე წყლის ფრინველები ბუდობენ და მიგრაციებისას გვხვდებიან. მოზამთრე ფრინველები ამ ტერიტორიაზე მკაცრი კლიმატის გამო არ გვხვდება. მე გამოვყავი ჯავახეთის ზეგანზე აღებული სინჯები, დავყავი სასიცოცხლო ციკლებად და გამოვთვალე პოზიტიური სინჯების წილი (სურ.25).



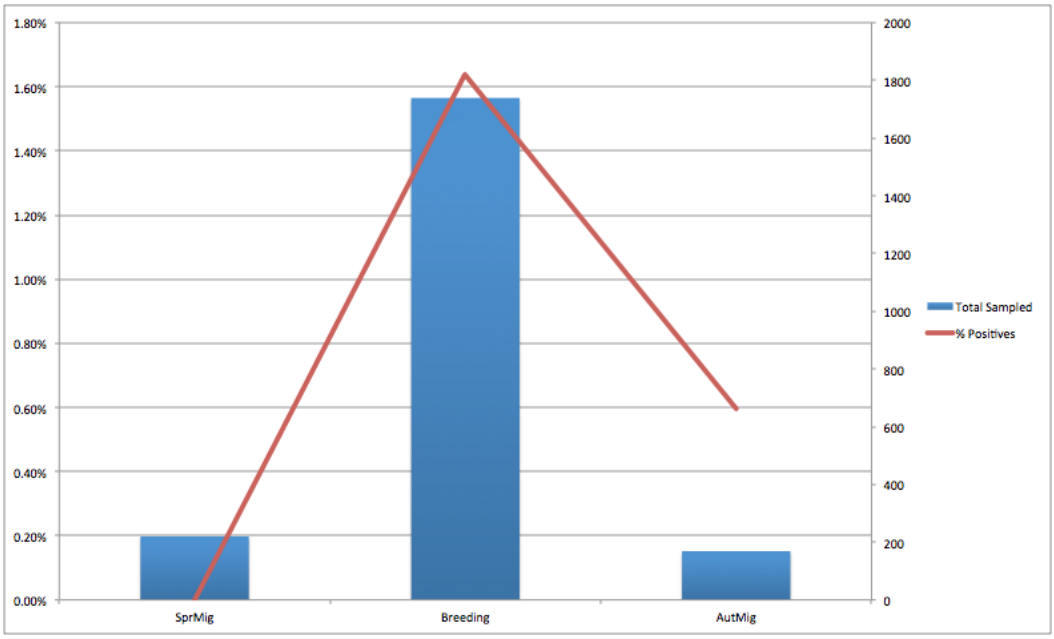
სურათი 25. ჯავახეთის ზეგანზე გასინჯული ფრინველების სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

გრაფიკზე ჩანს, რომ ბუდობის და საგაზაფხულო მიგრაციების დროს პოზიტიური სინჯების წილი დაბალია და საშემოდგომო მიგრაციის დროს მაღალი. აღსანიშნავია რომ საგაზაფხულო მიგრაციების დროს აღებული სინჯების რაოდენობა დაბალია და სინჯის გაზრდის შემთხვევაში შედეგი შეიძლება შეიცვალოს.

უფრო ნათელი ხდება სურათი თუ ამ მონაცემებს გავყობთ თოლიები და იხვების სინჯებიდან მიღებულ მონაცემებად

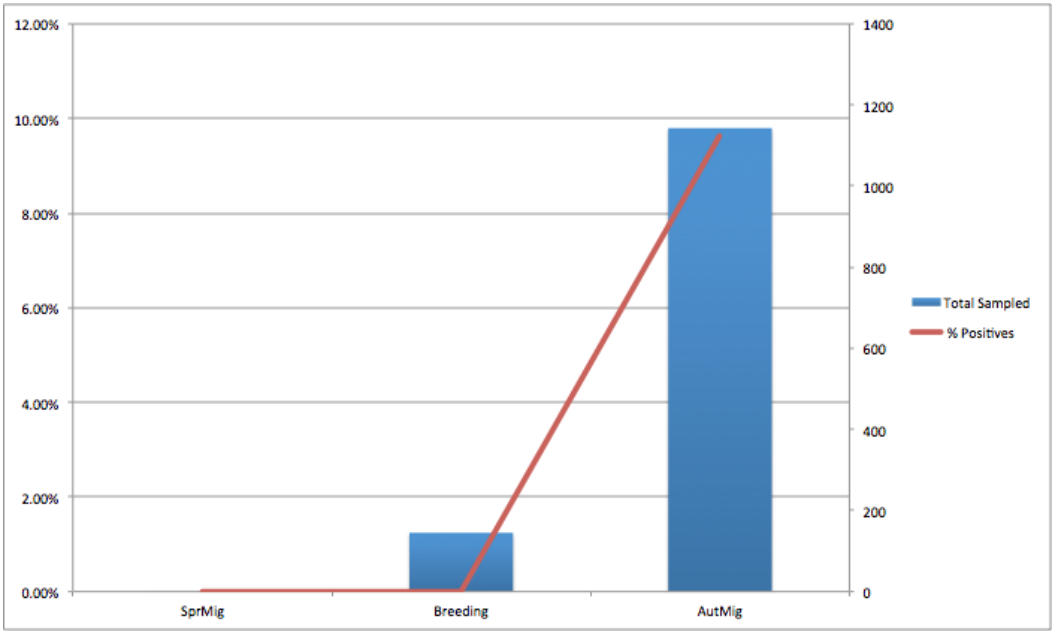
თოლიები კოლონიურად ბუდობენ და მათი სიმჭიდროვე ბუდობის პერიოდში მაღალია. ასევე თოლიის ბარტები თანდაყოლილი იმუნიტეტის დაცვას კარგავენ გამოჩეკიდან დაახლოებით 2 კვირის შემდეგ. აქედან

გამომდინარე იმუნურად ნაივური მაღალი სიმჭიდროვის თოლიის კოლონიაში ჩნდება პირველი ფრინველის გრიპის ეპიდემია სურ. 26.



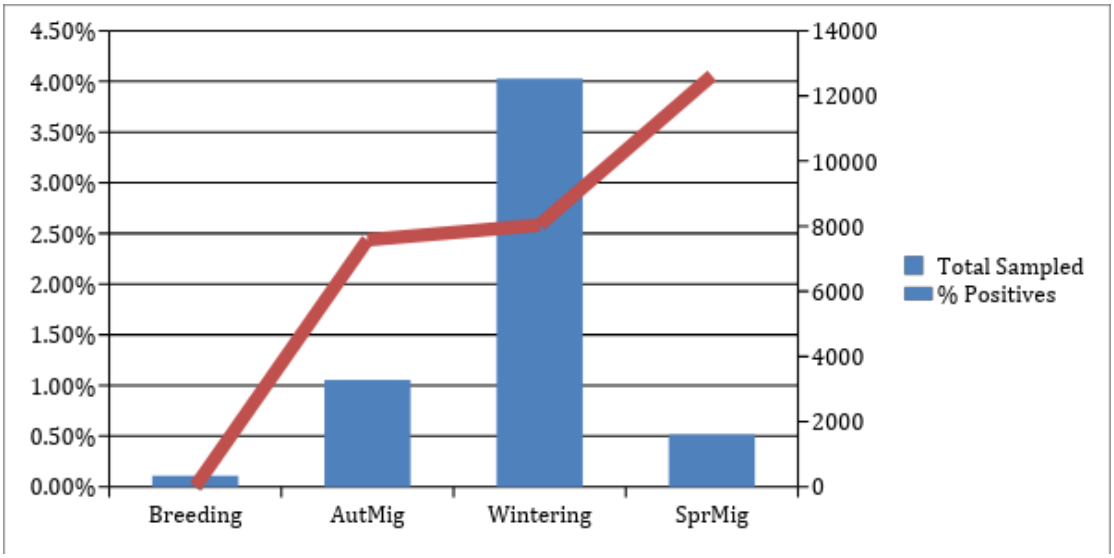
სურათი 26. ჯავახეთის ზეგანზე გასინჯული სომხური თოლიის სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

განსხვავებულ შედეგს ვხედავთ ჯავახეთის ზეგანზე იხვებიდან აღებული სინჯების გაანალიზების შემდეგ. აქ გრიპის ეპიდემია პრემიგრაციული კონგრეგაციების და მიგრანტი ფრინველების გუნდებად შეკრების დროს შეინიშნება სურ 27.



სურათი 27. ჯავახეთის ზეგანზე გასინჯული იხვების სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

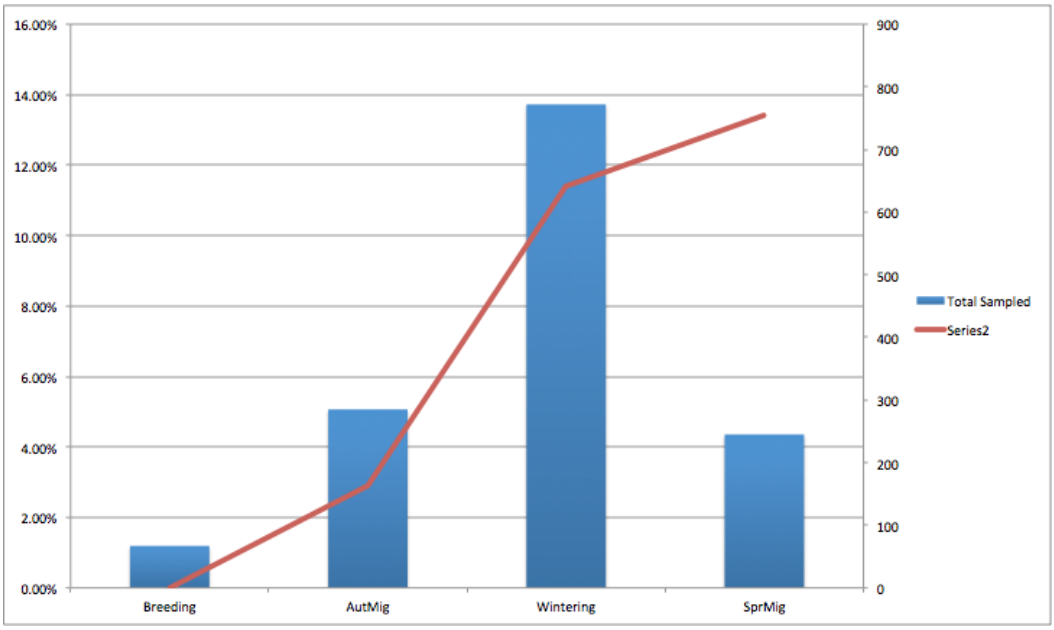
ცალკე დავიანგარიშე კოლხეთის დაბლობზე აღებული სინჯებში პოზიტიური სინჯების წილი ფრინველთა სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლების მიხედვით (სურ.28).



სურათი 28. კოლხეთის დაბლობზე გასინჯული ფრინველების სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

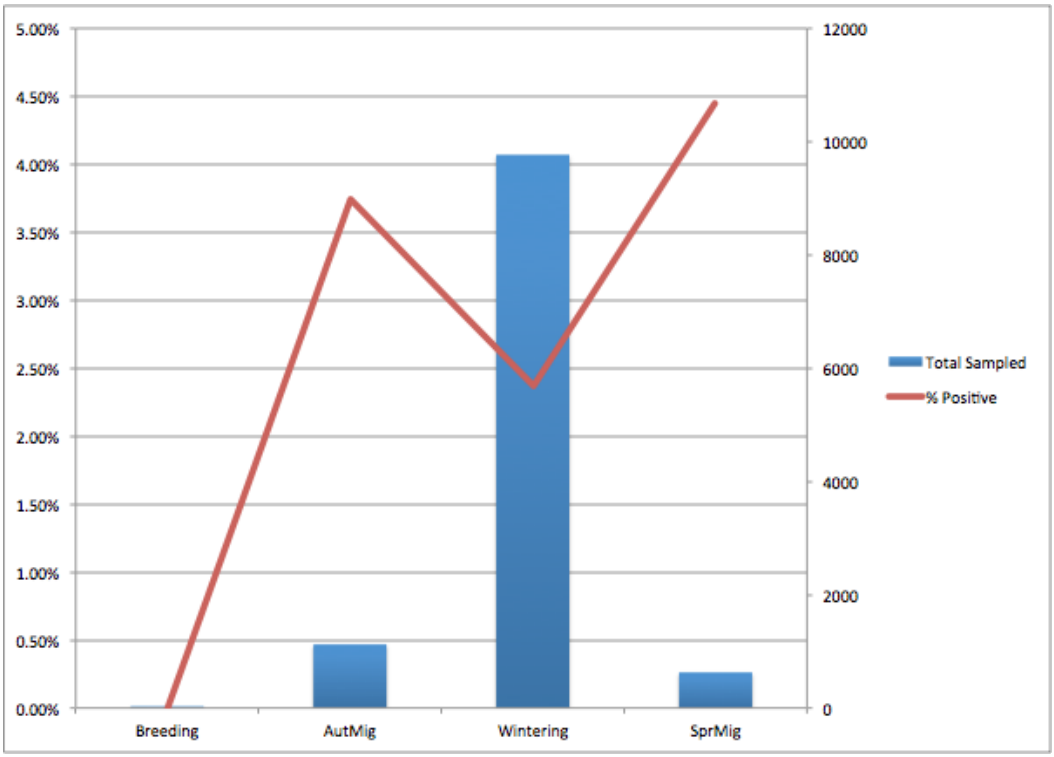
უფრო ნათელი ხდება სურათი თუ ამ მონაცემებს გავყობთ თოლიები და იხვების სინჯებიდან მიღებულ მონაცემებად

კოლხეთის დაბლობზე თოლიების სიმჭიდროვე ბუდობის პერიოდში დაბალია. რაც მიგრაციის დაწყებასთან ერთად იზრდება და მაღალი სიმჭიდროვე ნარჩუნდება მთელი ზამთრის განმავლობაში მაისის დასაწყისამდე. ეს აისახება ფრინველის გრიპის დასნებოვნების წილზეც. გამრავლების დროს დასნებოვნების წილი ძალიან დაბალია. შემოდგომის მიგრაციის დაწყებისას იზრდება და ზამთრობისას კიდევ უფრო მაღალია და გაზაფხულის მიგრაციის დროს აღწევს უმაღლეს ნიშნულს სურ 29.



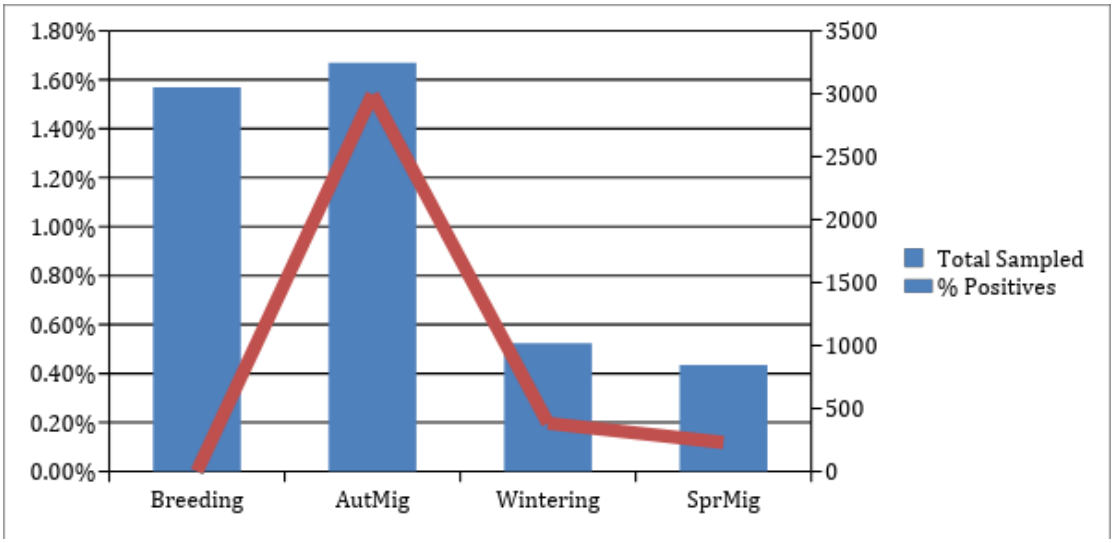
სურათი 29. კოლხეთის დაბლობზე გასინჯული თოლიების სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

განსხვავებული სურათი გვაქვს იხვების შემთხვევაში. იხვებში დასნებოვნების ორი ეპიდემია ფიქსირდება. პირველი ეპიდემია შემოდგომის მიგრაციის დროს. ზამთარში გრიპით დასნებოვნების წილი ნარჩუნდება საშუალო ნიშნულზე და გაზაფხულის მიგრაციისას შემდგომ ეპიდემიას ვხედავთ სურ 30.



სურათი 30. კოლხეთის დაბლობზე გასინჯული იხვების სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

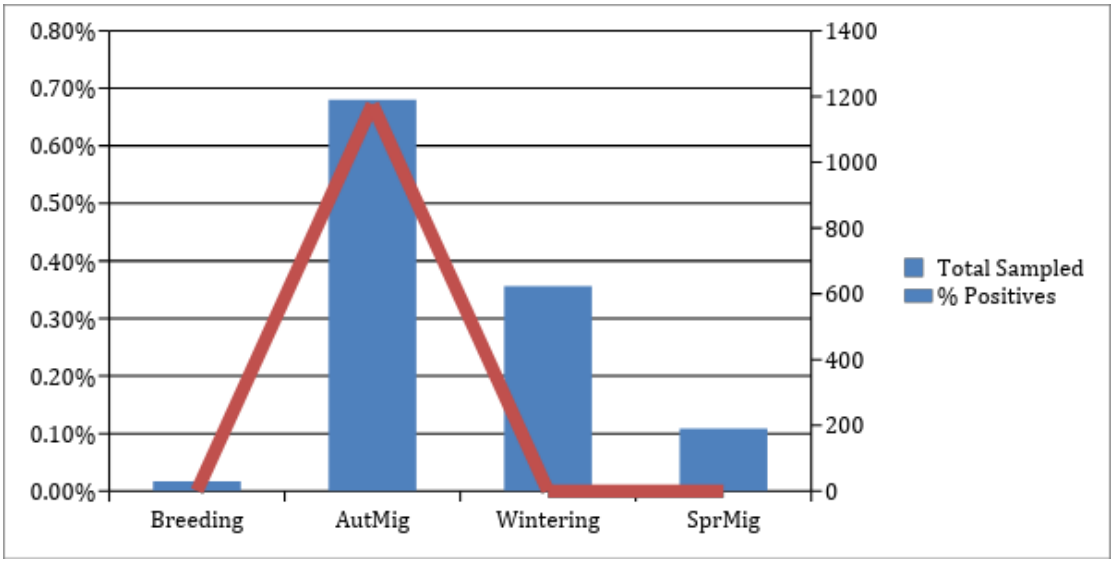
იგივე პრინციპით დავიანგარიშე ჭოროხის დელტის სინჯებში პოზიტიური სინჯების წილი ფრინველთა სასიცოცხლო ციკლების მიხედვით (სურ.31)



სურათი 31. ჭოროხის დელტაზე გასინჯული ფრინველების სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

ჭოროხის დელტაზე წყლის ფრინველები გვხვდებიან მთელი წლის განმავლობაში, თუმცა ამას განაპირობებს კასპიური თოლიის კოლონია. კოლონია დაფუძნდა ბათუმის ნაგავსაყრელის არსებობის გამო და შედგება 3–5 ათასი ფრინველისაგან. მიუხედავად სიმრავლისა მხოლოდ 20–30 წყვილი ბუდობს ყოველწლიურად მდინარე ჭოროხის დელტის კუნძულებზე. ჭოროხის დელტა გადამფრენი ფრინველების შესასვენებლად მნიშვნელოვანი ადგილია. აგვისტოს მეორე ნახევრიდან ჭოროხის დელტაში ათასობით წყლის ფრინველი იყრის თავს. ჭოროხის დელტაზე სინჯების უდიდესი უმრავლესობა არის აღებული თოლიებიდან ამიტომ გრაფიკი აჩვენებს თოლიების პოპულაციაში არსებულ ფრინველის გრიპის დინამიკას.

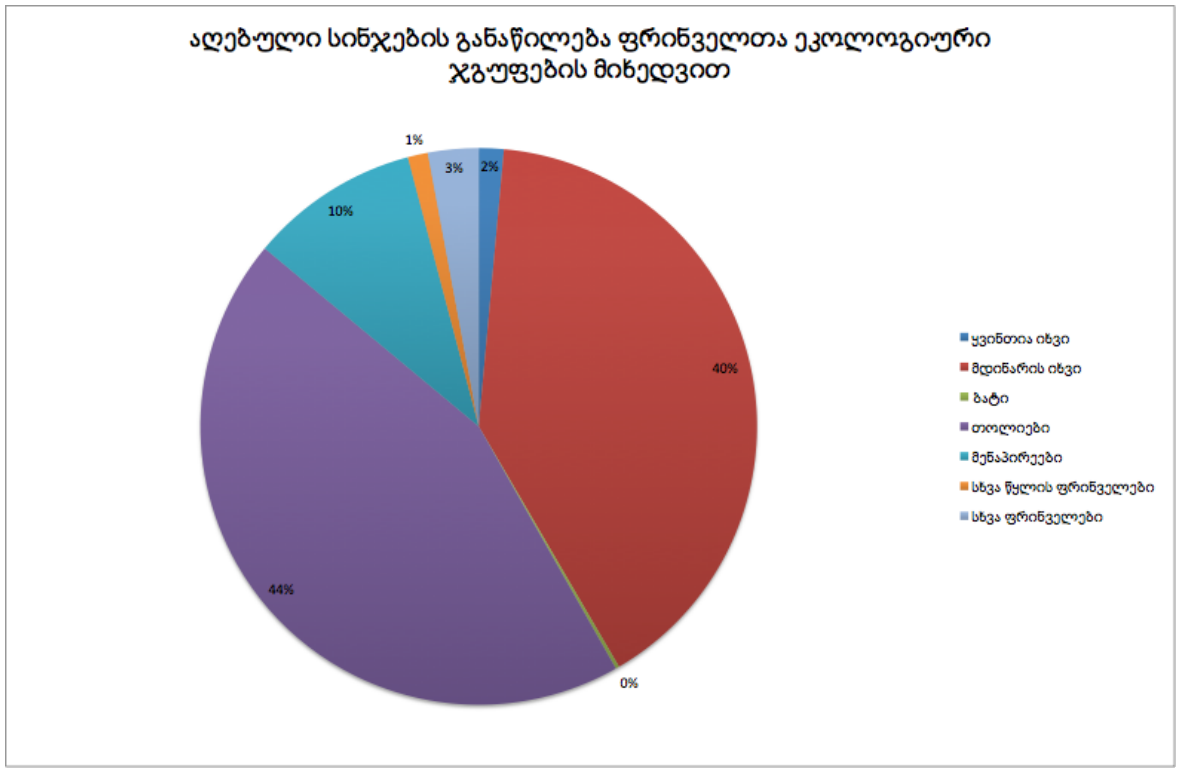
მეოთხე საკვლევი ტერიტორია იყო მტკვრის და ალაზნის დაბლობი. აქ მობუდარი წყლის ფრინველები ცოტაა. შემოდგომის მიგრაციების დროს მეჭვავიასებრი ფრინველები (თოლიები და მენაპირეები) იყენებენ მდინარე მდინარის დაბლობებს და მათ შემოგარენ წყალსატევებს შესასვენებლად და ძალების მოსაკრებად. ზოგიერთი სახეობის ფრინველი აქვე რჩება გამოსაზამთრებლად. ჩვენს მიერ მოპოვებული სინჯების უმრავლესობა ეკუთვნოდა თოლიებს ამიტომ გრაფიკი ძირითადად თოლიების პოპულაციაში მიმდინარე გრიპის დინამიკას გამოხატავს (სურ. 32).



სურათი 32. მტკვრისა და ალაზნის დაბლობზე გასინჯული ფრინველების სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

დადებითი სინჯები ეკუთვნოდა 22 სახეობის გარეულ ფრინველს, რომელთაგან 21 სახეობა იყო წყლის ფრინველი. 6 სინჯი იყო მაღალპათოგენური ა ტიპის გრიპის ვირუსი (HPAI). გარეულ ფრინველებში დაფიქსირდა 12 HA (H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H9, H10, H11, H13, H16) და 8 NA (N1, N2, N3, N4, N5, N6, N7, N8) ქვეტიპი. 1 სინჯი იყო ორმაგი ინფექციით H7/H13 – N3/N6.

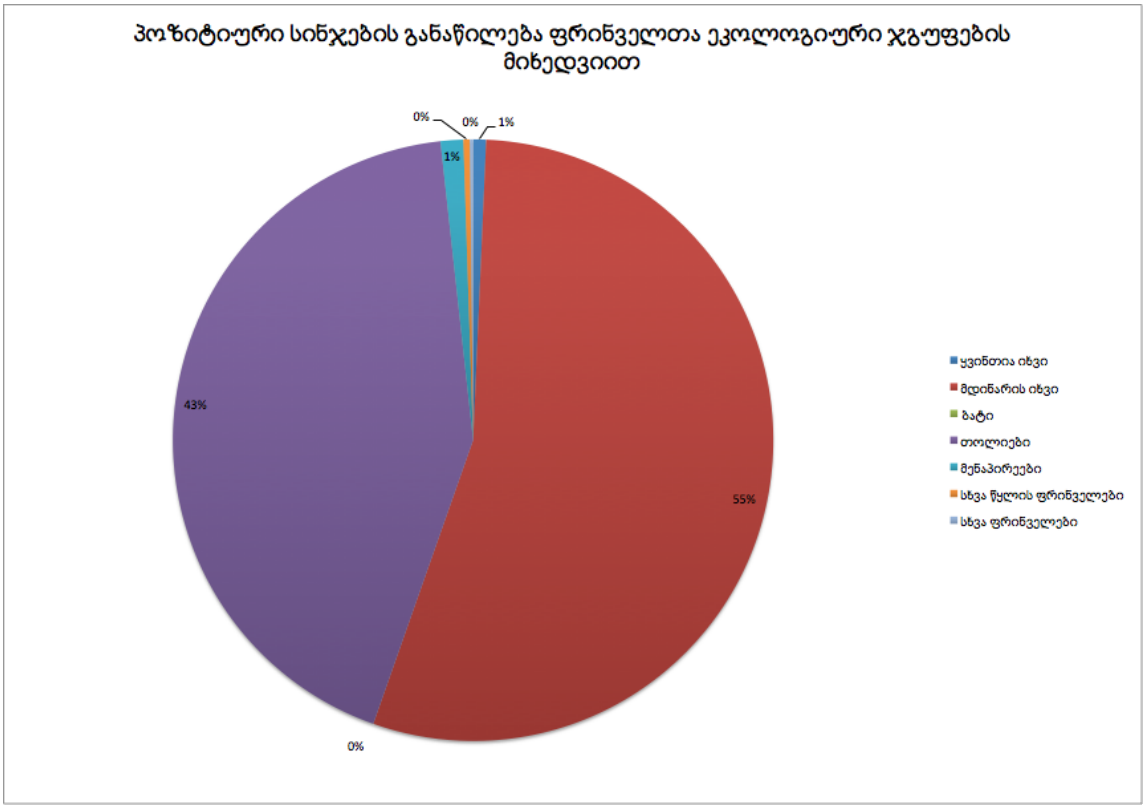
სახეობები დავყავით ეკოლოგურ ჯგუფებად და მონაცემები შევაჯამეთ ცხრილში 1., სადაც მოცემულია გასინჯული ეკოლოგიური ჯგუფები, სინჯების რაოდენობა, პოზიტიური სინჯების რაოდენობა, პოზიტიური სინჯების წილი და 95% სანდოობის ინტერვალი. ვირუსზე შესამოწმებლად სინჯების 44% იყო მოპოვებული თოლიებიდან, 40 % მდინარის იხვებიდან, 10% მენაპირეებიდან, 3% სხვა ფრინველებიდან, 2%ყვინთია იხვებიდან და 1% სხვა წყლის ფრინველებიდან. დანარჩენი ჯგუფებიდან სინჯები მცირე ოდენობით იყო მოპოვებული (სურ 33)



სურათი 33. მოპოვებული სინჯების განაწილება ეკოლოგიური ჯგუფების მიხედვით

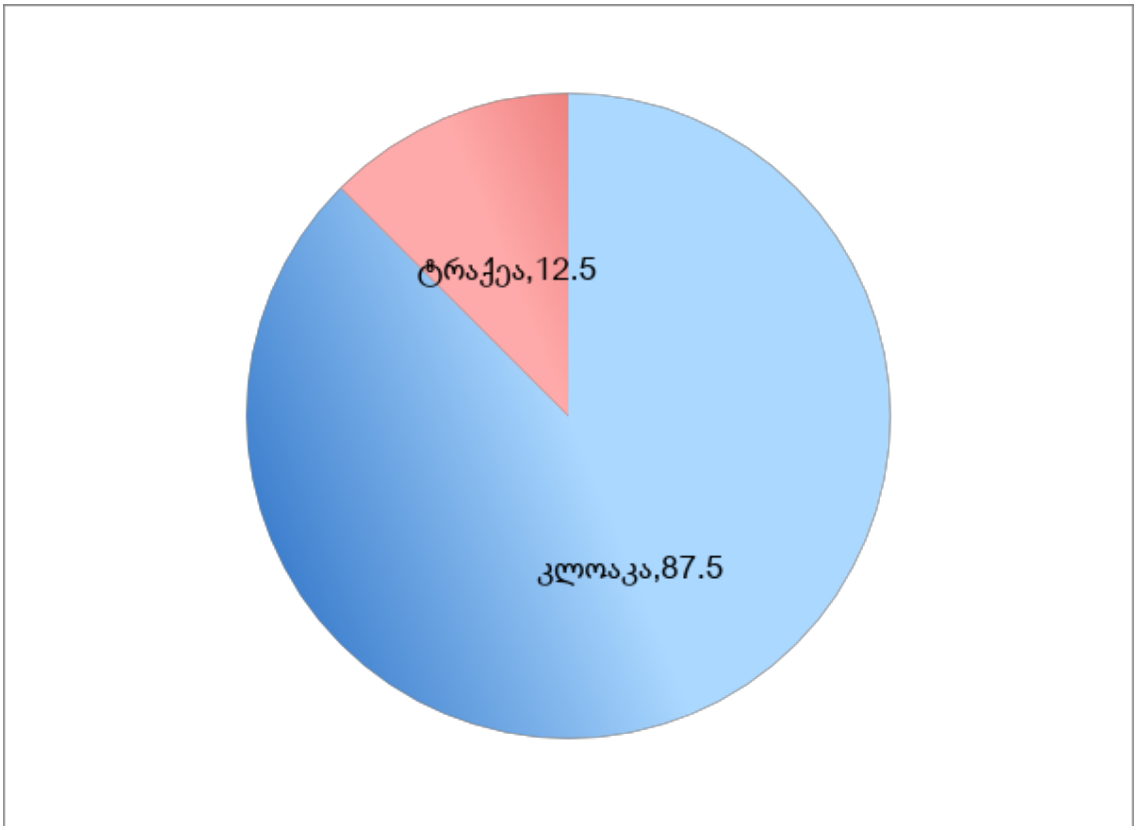
ჩვენ ასევე დავითვალეთ დასნებოვნების სტატისტიკა კონკრეტული ეკოლოგიური ჯგუფებისათვის. ვირუს პოზიტიური სინჯების 55% იყო მოპოვებული მდინარის იხვებიდან, 43 % თოლიებიდან, 1% ზე ნაკლები მენაპირეებიდან, ბატებიდან, სხვა ფრინველებიდან, სხვა წყლის ფრინველებიდან.

შედეგები მოცემულია სურათ 34-ში.



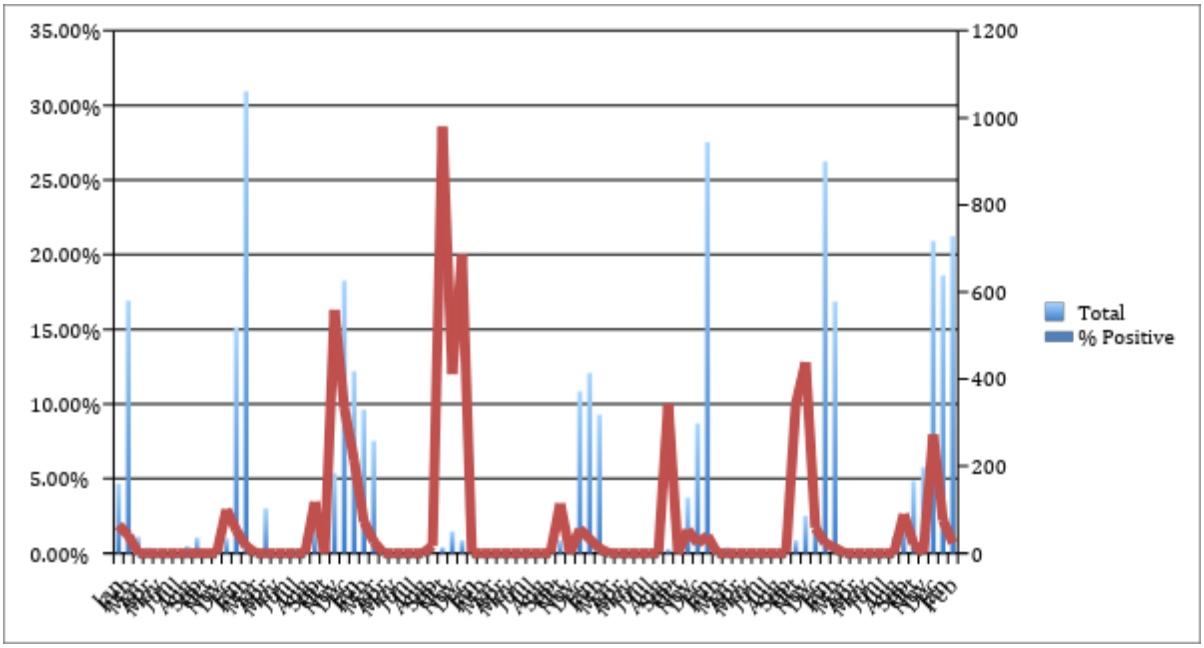
სურათი 34. ფრინველის ა ტიპის გრიპის ვირუს პოზიტიური სინჯების წილი სახეობების მიხედვით

გამოვიკვლიეთ, რამდენად მნიშვნელოვანი იყო, როგორც ტრაქეალური ასევე კლოაკალური სინჯების აღება ფრინველებში გრიპის ვირუსის დასაფიქსირებლად. ეს კვლევა ასევე გვაძლევს ინფორმაციას იმაზე თუ ფრინველებში საიდან უფრომ მეტად ხდება ვირუსის გავრცელება სასუნთქი თუ საჭმლის მომნელებელი ტრაქტიდან. ყოველი გასინჯული იხვიდან ჩვენ ვიღებით წყვილ სინჯს ერთს ტრაქეალურს და მეორს კლოაკალურს. სინჯები დამოუკიდებლად ინახებოდა და ხდებოდა მათი დიაგნოსტიკა დამოუკიდებლად. იხვებში ვირუს პოზიტიური სინჯების 87.5% იყო კლოაკალური ნაწილიდან აღებული ხოლო 12.5% კიდევ ტრაქეალური ნაწილიდან აღებული (სურ. 35).



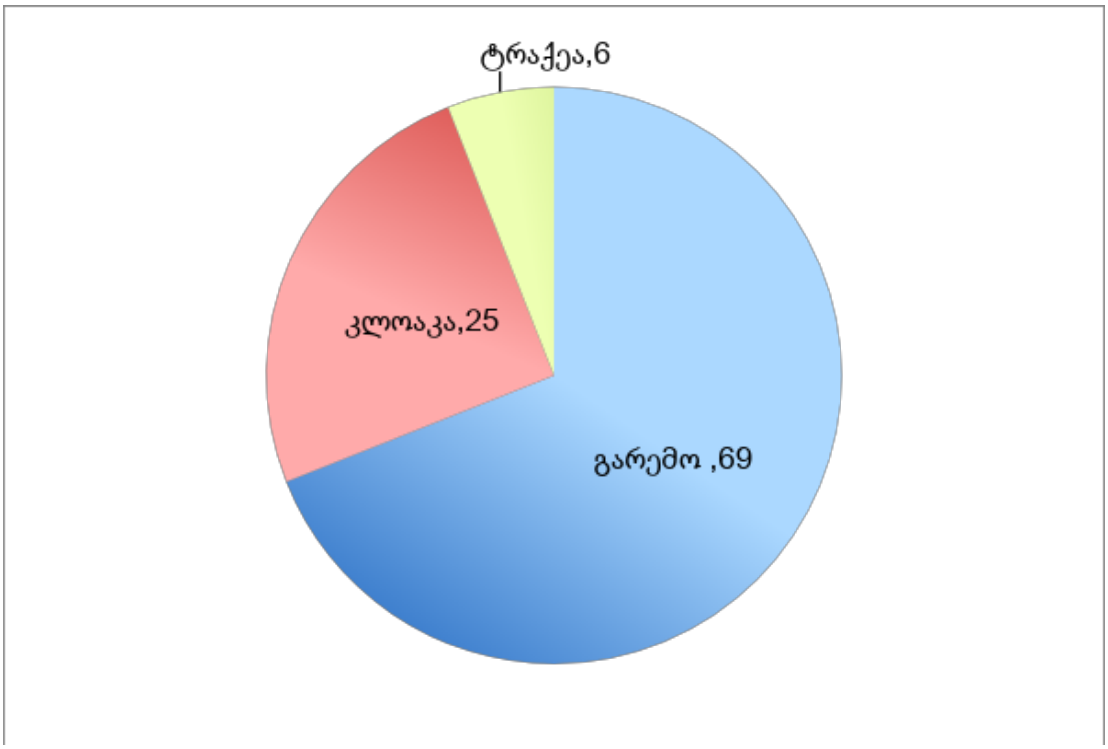
სურათი 35. იხვებში პოზიტიური სინჯების პროცენტული განაწილება სინჯის აღების ანატომიური ადგილის მიხედვით

იხვების ვირუსით დასნებოვნების დინამიკის დასანახად ავაგე მოპოვებული სინჯებისა და პოზიტიური სინჯების გრაფიკი (სურ.36).



სურათი 36. იხვების ვირუსით დასნებოვნების დინამიკა 2010-2017 თვეების მიხედვით

თოლიებში სინჯების 74% იყო მოპოვებული გარემოდან (ფეკალიებიდან) და 13% კიდევ როგორც ტრაქეიდან ასევე კლოაკიდან. პოზიტიური სინჯების 69% იყო გარემოდან მიღებულ სინჯებში. 24.52% კლოაკალური სინჯი იყო პოზიტიური და მხოლოდ 6% ტრაქეალური სინჯებისა იყო პოზიტიური (სურ.37).

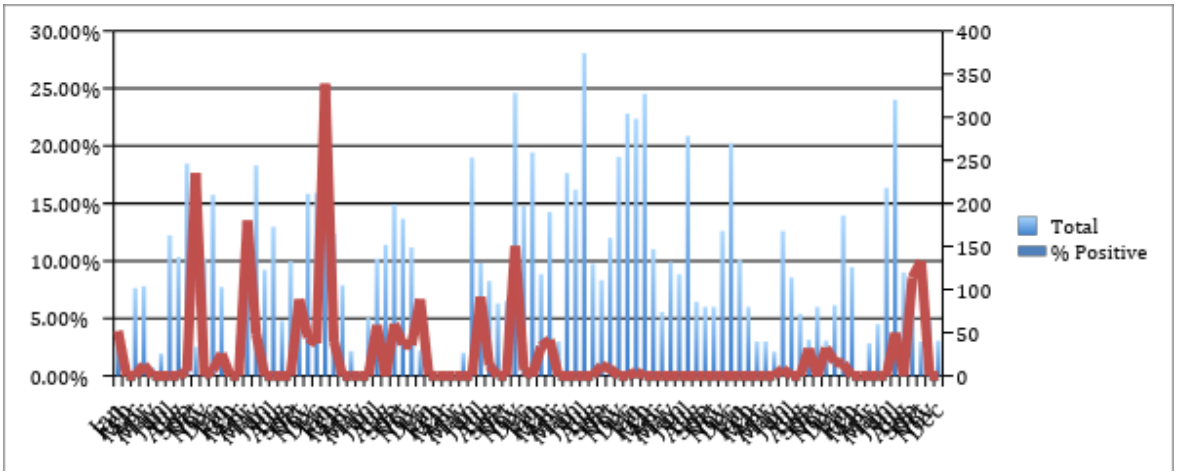


სურათი 37. თოლიებში პოზიტიური სინჯების პროცენტული განაწილება

ჩვენ გარემოდან აღებული სინჯები ანალიზიდან გამორიცხეთ რადგან მისი შესაბამისი ტრაქეალური სინჯი არ იყო აღებული. დარჩენილი წყვილური მონაცემები შევამოწმეთ ხი კვადრატის ტესტის მეშვეობით. შედეგად აღმოჩნდა სარწმუნო განსხვავება კლოაკალურ და ტრაქეალური სინჯებში ვირუსის აღმოჩენის ალბათობის (X-კვადრატი = 27.76, p-სიდიდე =<<<0.05), კლოაკალურ სინჯებში სარწმუნოდ მეტია ვირუსის აღმოჩენის ალბათობა ვიდრე ტრაქეალურ სინჯებში. ჩვენ ასევე შევადარეთ თუ იყო განსხვავება ვირუსის აღმოჩენის ალბათობა ტრაქეალურ და კლოაკალურ

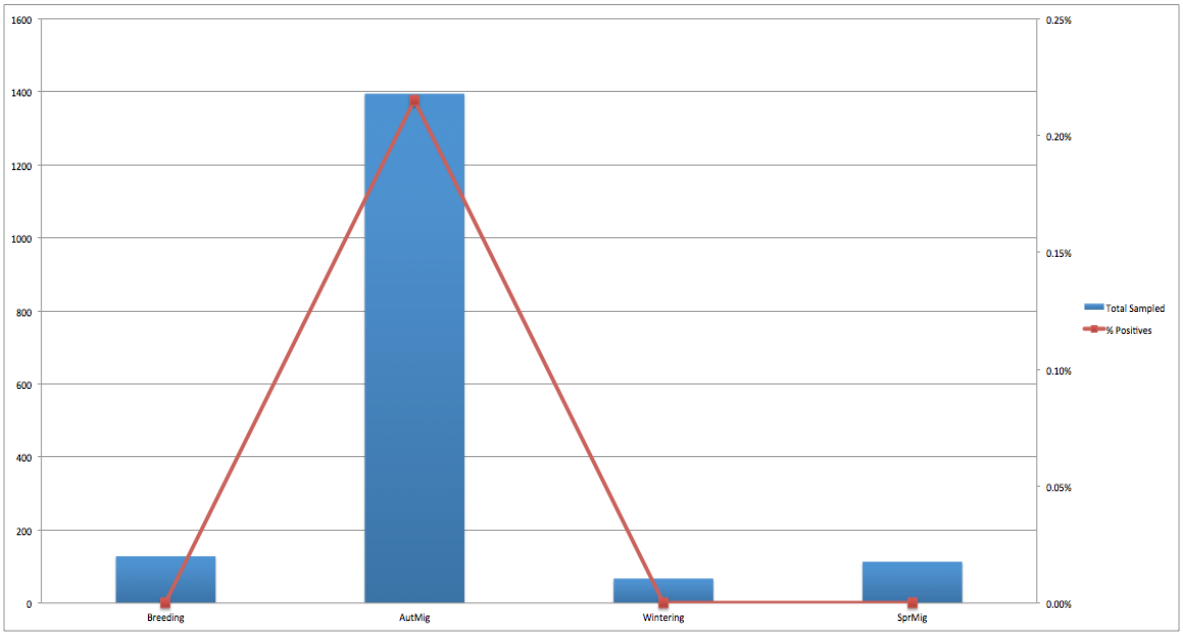
სინჯებში იხვებსა და თოლიებს შორის. აღმოჩნდა რომ სარწმუნო განსხვავება ამ ორ ეკოლოგიურ ჯგუფს შორის არ არსებობს (პიერსონის ხი კვადრატის ტესტი იატის განგრძობითი კორექციით: X-კვადრატი= 0.02, p-სიდიდე = 0.885). ასევე აღსანიშნავია რომ არც ერთ ფრინველიდან არ მიგვიღია ორი ტრაქეალური და კლოაკალური ვირუს პოზიტიური სინჯი. ეს შედეგი მიუთითებს იმაზე, რომ მიუხედავად იმისა, რომ კლოაკალურ სინჯებში სარწმუნოდ მეტია ვირუსიუს აღმოჩენის ალბათობა, მხოლოდ კლოაკალური სინჯების აღების შემთხვევაში აუცილებლად გამოგვრჩებოდა სინჯები, რომლებშიც ტრაქეალური სინჯები იყო პოზიტივები.

თოლიის 49 სინჯი, რომელიც მიღებულია გარემოდან აღებული, კლოაკალური და ტრაქეალური სინჯებიდან, იყო პოზიტიური ფრინველის ა ტიპის გრიპის ვირუსზე. ამ სინჯებიდან მოხერხდა 13 ვირუსის იზოლირება და სექვენირება. 13 ვე იზოლირებული ვირუსი იყო გარემოდნ ან კლოაკიდან აღებული. პოზიტიური ტრაქეალური სინჯებიდან ვირუსის იზოლირება ვერ მოხერხდა. თოლიებში იზოლირებული ვირუსები აღმოჩნდა შემდეგი ქვეტიპების: H11N1, H9N1, H9N3, H13N6 და H13N8. მიღებული შედეგი გვაჩვენებს, რომ თოლიებში აღნიშნული ქვეტიპების ძირითადი გამოყოფის გზა არის საჭმლის მომნელებელი სისტემა. თოლიების ვირუსით დასნებოვნების დინამიკის დასანახად ავაგე მოპოვებული სინჯებისა და პოზიტიური სინჯების გრაფიკი (სურ. 38).



სურათი 38. თოლიების ვირუსით დასნებოვნების დინამიკა 2010-2017 თვეების მიხედვით

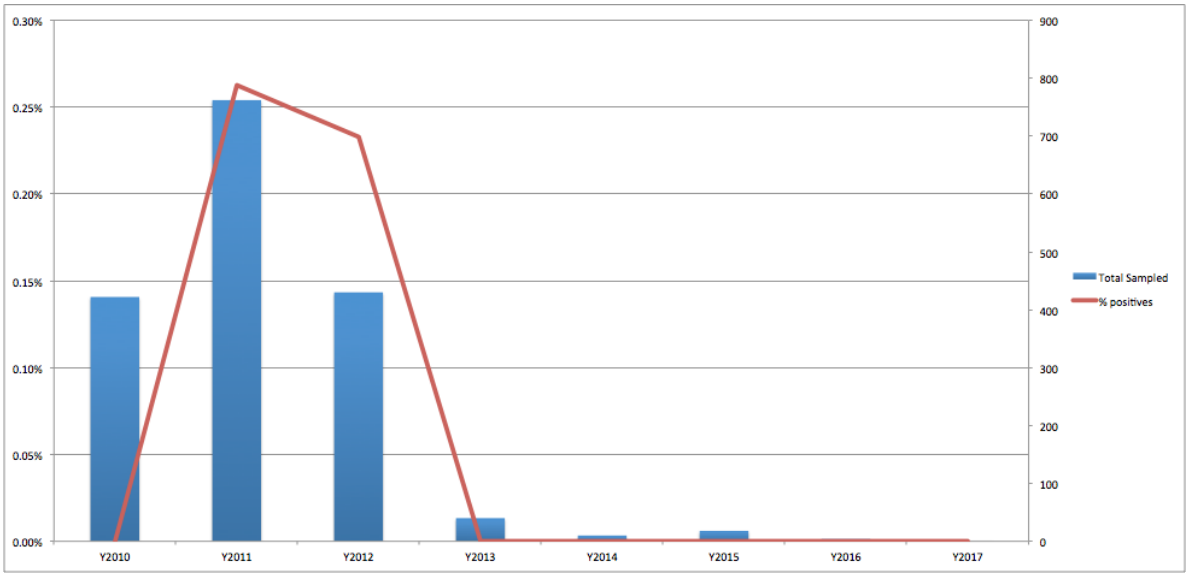
ჩვენ ასევე მოვაგროვეთ სინჯები მენაპირე ფრინველებიდან. მიუხედავად იმისა რომ დასნებოვნების წილი საკმაოდ დაბალი იყო, გრიპის გავრცელების დინამიკა განპირობებული აღმოჩნდა მიგრანტი მენაპირე ფრინველებით სურ 39.



სურათი 39. მენაპირე ფრინველებიდან სხვადასხვა სასიცოცხლო ციკლის პერიოდში აღებული სინჯების რაოდენობა და პოზიტიური სინჯების პროცენტული წილი

კვლევის განხორციელების დაწყებიდან მოყოლებული მენაპირეებიდან ვიღებდით სინჯებს. კვლევის განხორციელების პირველ წლებში დიდი ძალისხმევა იხარჯებოდა სინჯების მოპოვებაზე თუმცა როგორც პირველი 3 წლის შედეგებმა აჩვენა დასნებოვნების დონე იყო დაბალი 0.20-0.25%

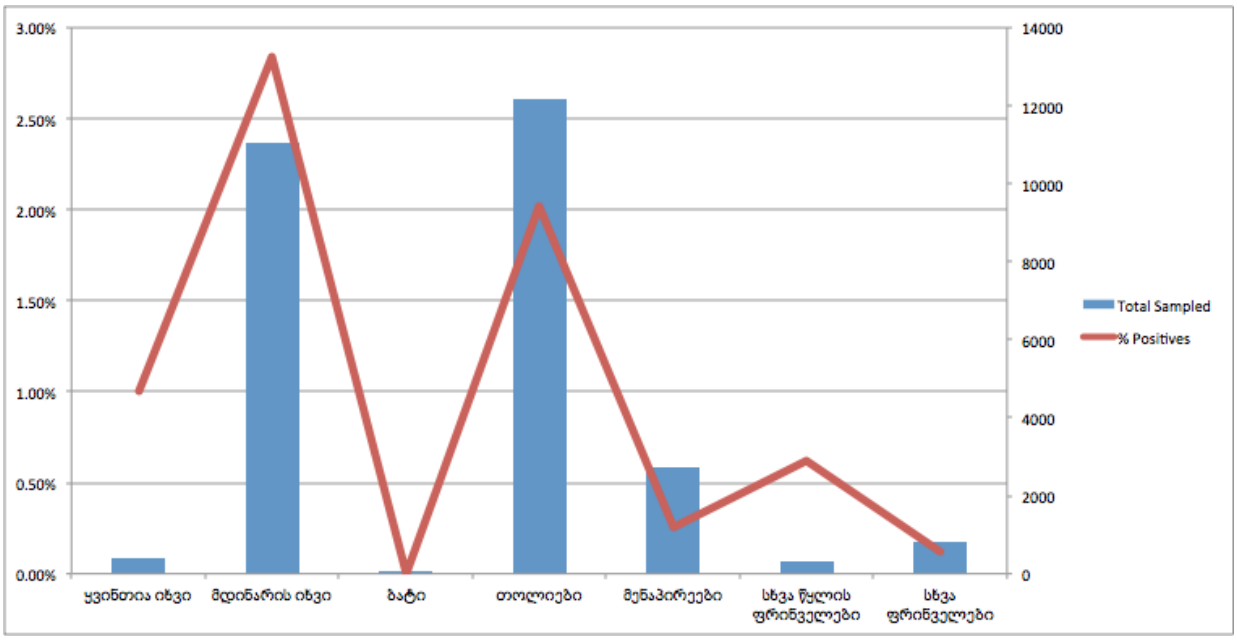
ამიტომ ჩვენ გადავწყვიტეთ შემდეგ წლებში სინჯების მოპოვების ძალისხმევა თოლიების და იხვების სინჯების მოპოვებაზე გადაგვეტანა სურ.40.



სურათი 40. მენაპირეების სინჯვის ძალისხმევის და ვირუსით დასნებოვნების დინამიკა 2010-2017 თვეების მიხედვით

კვლევის განმავლობაში აღებული ყველა სინჯი (30 000) შევაჯამე და გამოვითვალე პოზიტიური სინჯების წილი ეკოლოგიური ჯგუფების მიხედვით. დასნებოვნების ყველაზე მაღალი წილი, საშუალოდ 2.84%, აღმოჩნდა მდინარის იხვების (*Anas*) ეკოლოგიურ ჯგუფში. შემდეგი ჯგუფი, დასნებოვნების ყველაზე უფრო მაღალი წილით (2.02%) არის თოლიების (*Laridae*) ჯგუფი. ყვინთია იხვებიდან (*Aythya, Mergus*) მოპოვებული სინჯების რაოდენობა, თოლიებთან და მდინარის იხვებთან შედარებით არ იყო დიდი (400). თუმცა აღმოჩნდა, რომ დასნებოვნების წილი იო შედარებით მაღალი (1.00%). მენაპირეებიდან (*Scolopacidae*) მოპოვებული სინჯების რაოდენობა საკმაოდ მაღალი იყო (2700) თუმცა დასნებოვნების წილი იყო დაბალი (0.26%). სხვა წყლის ფრინველები ერთად დავაჯგუფე და აქაც დასნებოვნების წილი იყო შედარებით დაბალი (0.62%) თუმცა ცოტათი უფრო მეტი ვიდრე მენაპირეებში. რაც შეეხება სხვა ფრინველებს, რომლებიც არ არიან დამოკიდებული წყლის

ეკოსისტემაზე მათში დასნებოვნების წილი ძალიან დაბალი (0.12%) იყო (სურ 41.)

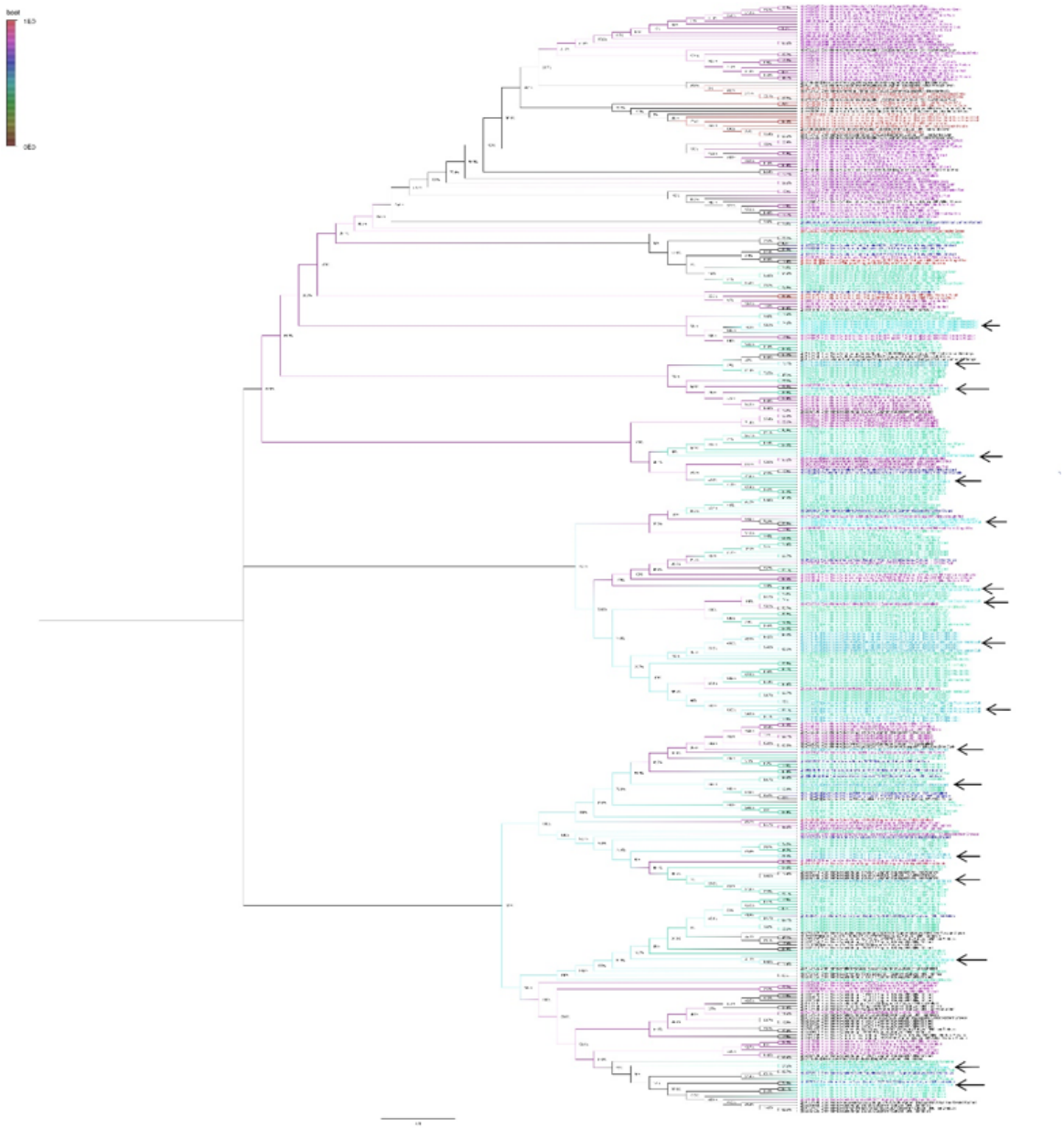


სურათი 41. მოპოვებული სინჯების რაოდენობა და ვირუს პოზიტიური სინჯების წილი ფრინველების ეკოლოგიური ჯგუფების მიხედვით

ქვეთავი 3.4. საქართველოში იზოლირებული ფრინველის გრიპის გენეტიკური კვლევა (კვლევის ნაწილი შესრულებულია ანა პაპკიაურის სამაგისტრო თემის ფარგლებში)

საქართველოში იდენტიფიცირებული პოზიტიური სინჯები გავგზავნეთ ერასმუსის სამედიცინო ცენტრის ვირუსოლოგიის დეპარტამენტში, სადაც 33 იზოლირებული ვირუსებიდან გამოიყო რნმ და დავასექვენირდა ვირუსის მთელი გენომი. მიღებული სექვენსებს დავუმატეთ NIAID IRD მონაცემთა ბაზიდან ჩამოტვირთული ევრაზიაში იზოლირებული იმავე სეგმენტის სექვენსები. გავაანალიზეთ მაქსიმუმ ლაიქლიჰუდის მეთოდით. ფილოგენეტიკური ხეების ასაგებად შევარჩიეთ ვირუსის სეგმენტები HA, NP, BP1, BP2, M. გარეული ფრინველების სამიგრაციო რუკის მიხედვით შევღებეთ ფილოგენეტიკური ხეები.

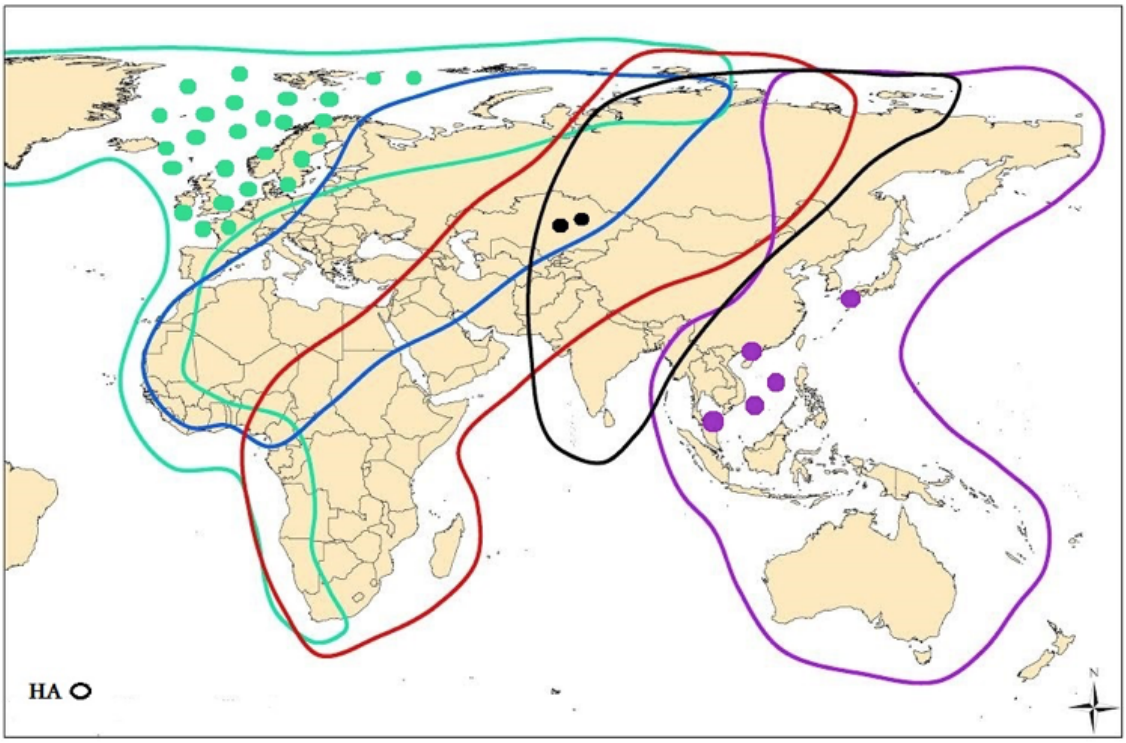
HA სეგმენტის მიხედვით ფილოგენეტიკურ ხეში გამოიყო 3 ძირითადი კლადა. პირველი კლადაში მოხვდა უმეტესწილად აზიაში გავრცელებული ვირუსები. მეორე კლადაში უფრო მეტად ევროპაში მოცირკულირე ვირუსები. მესამე კლადაში კი ერთიანდება აზიაში იზოლირებული ვირუსები, დასავლეთ ევროპაში მოცირკულირე შტამები (სურ 42).



სურათი 42. მაქსიმუმ ლაიქლიჰუდის მეთოდით აგებული HA გენის ფილოგენეტიკური ხე. ხის კლადები შეღებილია ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტების მიხედვით (რუკა 2). შავი ისრებით მითითებულია საქართველოში მოპოვებული სინჯების მდებარეობა ხეში (პაპკიაური, 2017).

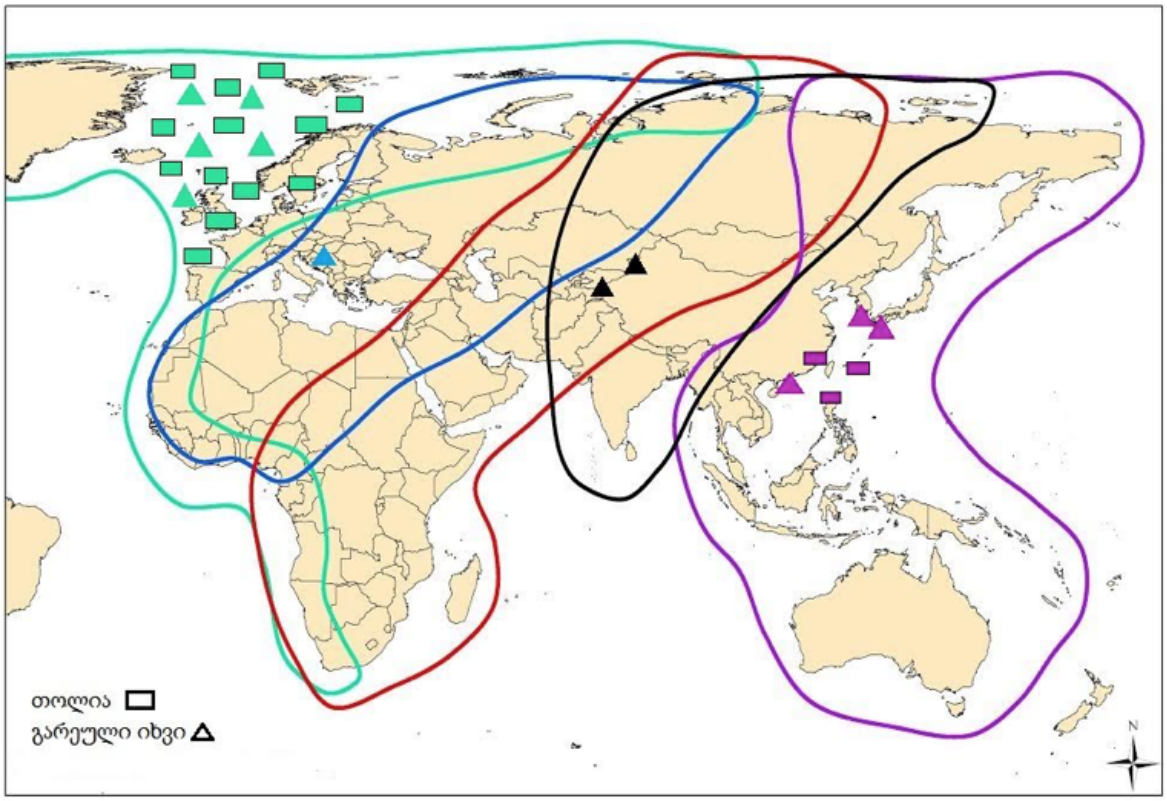
ჩვენს მიერ აგებული HA სეგმენტის ფილოგენეტიკური ხის მიხედვით საქართველოში იზოლირებული H10, H4, H3, H7, H2, H9, H13, H11, H16, H5 ვირუსები გაერთიანდა აღმოსავლეთ ატლანტურ სამიგრაციო მარშრუტზე მოცირკულირე ვირუსებთან. საქართველოში იზოლირებული H7, H1, H10, H13, H16, H12, H9, H2, H5, H3 ვირუსები გაერთიანდა აღმოსავლეთ აზიის

ავსტრალიის სამოგრაციო მარშრუტზე მოცირკულირე ვირუსებთან. ჩვენს მიერ გამოყოფილი H5 H2 H1 H10 H3 ვირუსები დაჯგუფდა ხმელთაშუა-შავი ზღვისა და ცენტრალური აზიის საიმიგრაციო მარშრუტებზე მოცირკულირე ვირუსებთან. ჩატარებული ანალიზის შედეგად დავამზადეთ რუკა რომელზეც დატანილია საქართველოში იზოლირებული ვირუსების უახლოესი ნათესავები ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტების მიხედვით (რუკა 10)



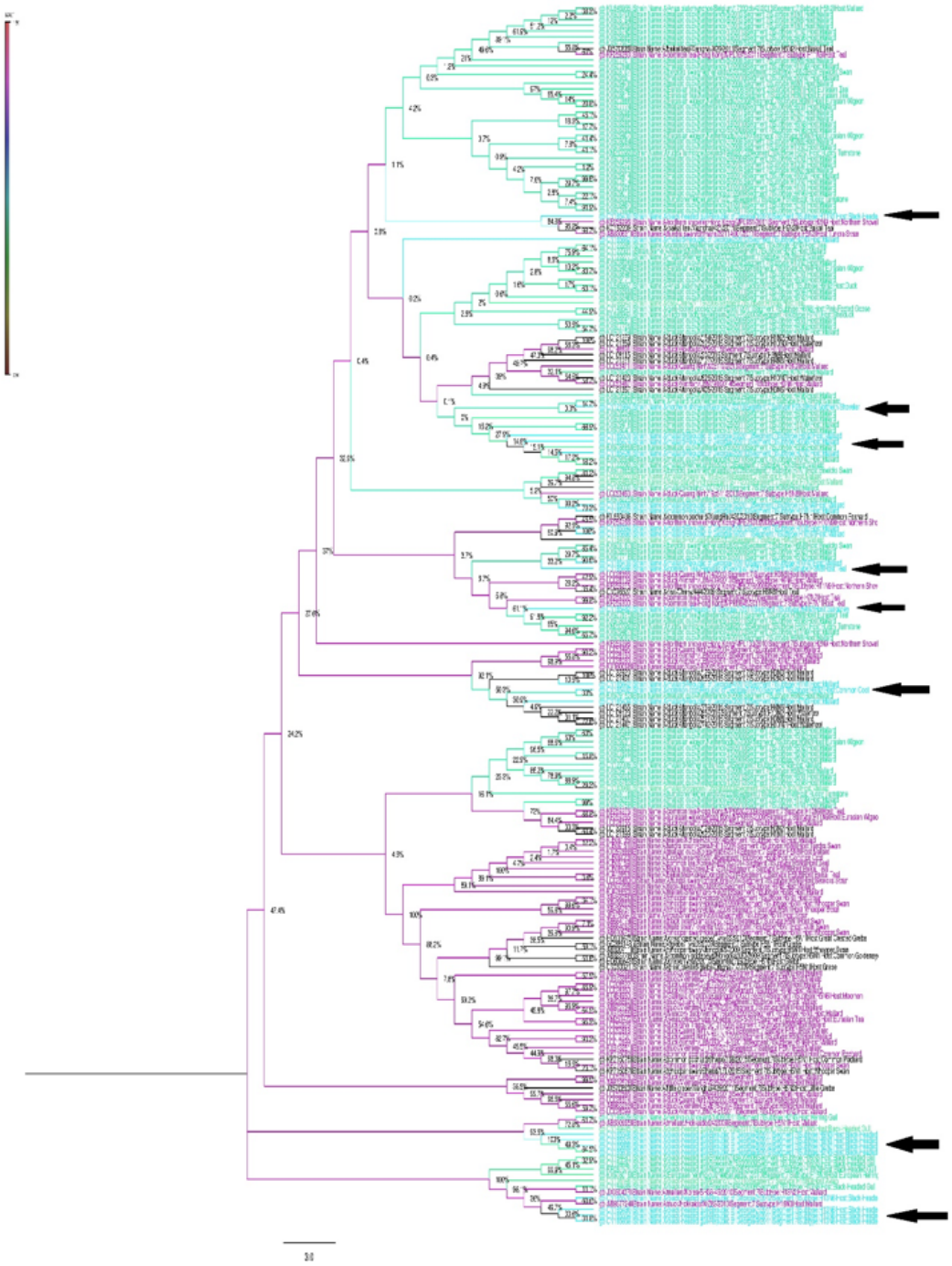
რუკა 10. საქართველოში იზოლირებული გრიპის ვირუსების უახლოესი ნათესავების გავრცელება HA გენის ფილოგენეტიკური ხის მიხედვით (პაპკიაური, 2017).

ჩვენ ასევე გამოვყავით ცალცალკე გარეულ იხვებში და თოლიებში მოცირკულირე ვირუსები რათა დაგვენახა თუ არის განსხვავება მასპინძელი სახეობის მიხედვით (რუკა 11).



რუკა 11. საქართველოში გარეული იხვიდან და თოლიიდან იზოლირებული გრიპის ვირუსების უახლოესი ნათესავების გავრცელება HA გენის ფილოგენეტიკური ხის მიხედვით. ოთხკუთხედებით მოცემულია თოლიებიდან იზოლირებული ვირუსები ხოლო სამკუთხედებით გარეული იხვიდან იზოლირებული გრიპის ვირუსები. სხვადასხვა ფერის პოლიგონები განსაზღვრავს ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტებს (პაპკიაური, 2017).

M გენის მიხედვით აგებული ფილოგენტიკური ხიდან ჩანს, რომ საქართველოში გამოყოფილი ვირუსების დიდი ნაწილი ერთიანდება ძირითადად აღმოსავლეთ ატლანტურ სამიგრაციო მარშრუტზე გამოყოფილ ვირუსებთან (სურ 43).

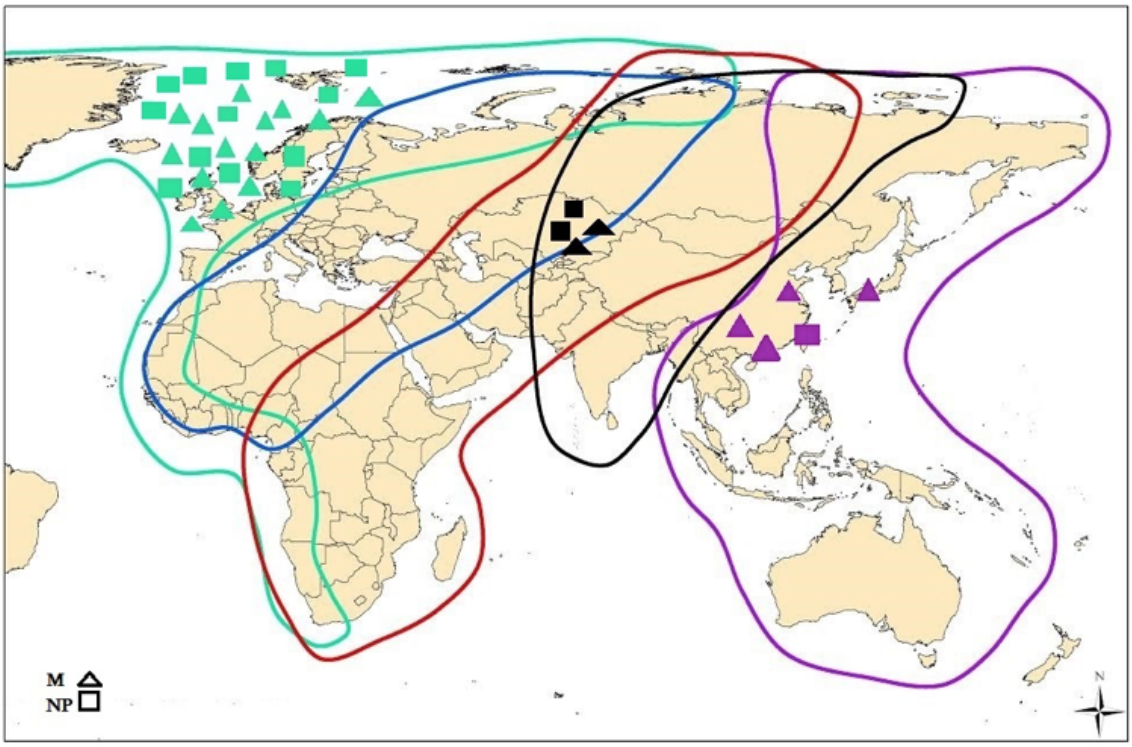


სურათი 43. მაქსიმუმ ლაიქლიჰუდის მეთოდით აგებული M გენის ფილოგენეტიკური ხე. ხის კლადები შეღებილია ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტების მიხედვით (რუკა 2). შავი ისრებით მითითებულია საქართველოში მოპოვებული სინჯების მდებარეობა ხეში (პაპკიაური, 2017).

საინტერესოა, რომ M გენის მეშვეობით აღებული ხეზე გამოიყოფა მცირე კლადა, სადაც საქართველოში გამოყოფილი ფრინველის გრიპის ვირუსები H9N3 H2N7 H9N1 H2N5 ერთიანდება ისლანდიაში (2011წ. (H10N5; H2N5))

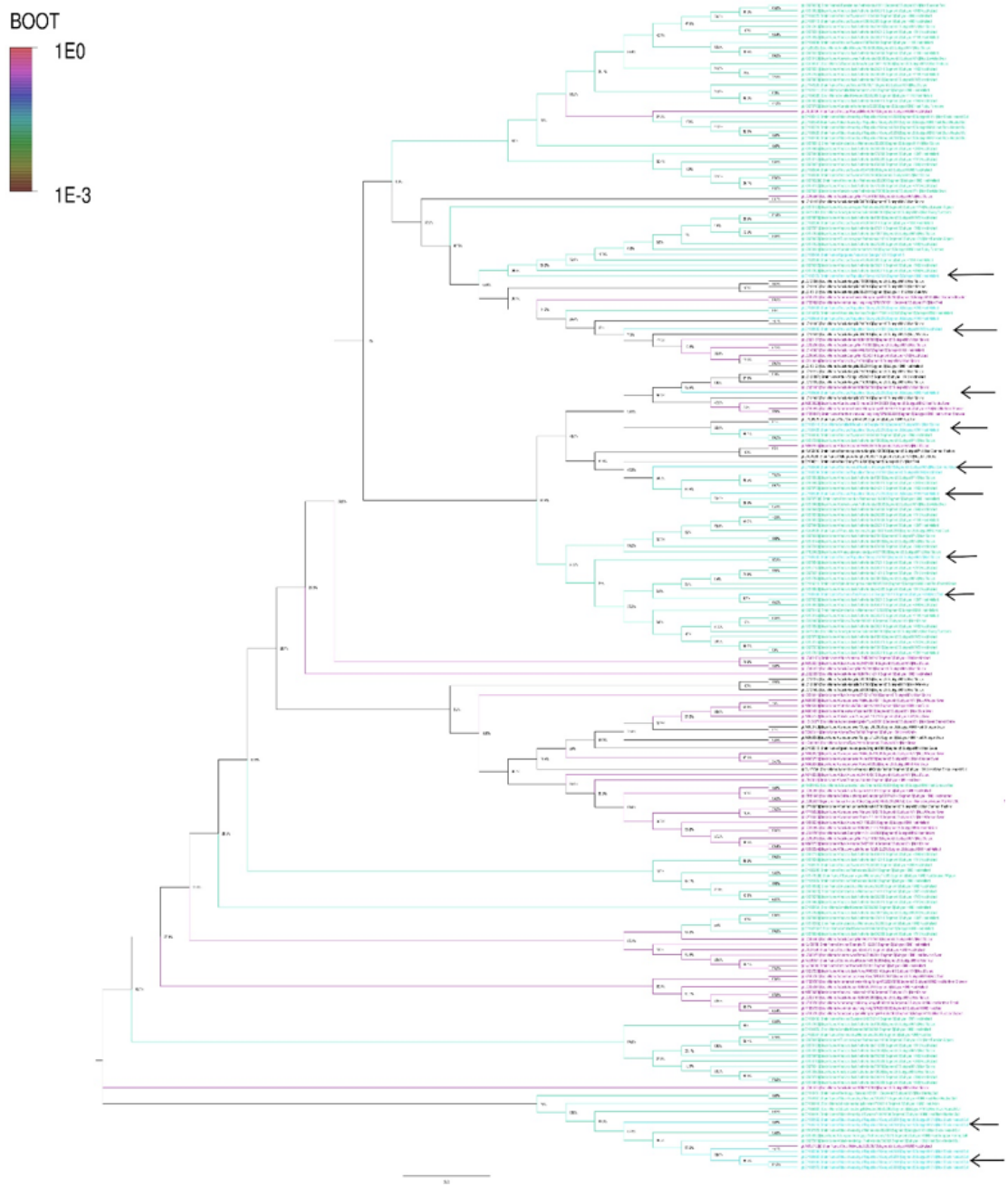
და ასევე ჰოკაიდოში (იაპონია) (2009წ. (H5N1)) გამოყოფილ ვირუსებთან. საქართველოში და ისლანდიაში გამოყოფილი ქვეტიპების მასპინძელ ორგანიზმებს წარმოადგენენ თოლიები, ხოლო ჰოკაიდოში გამოყოფილი ვირუსის გარეული იხვი (რუკა 12).

NP გენის ფილოგენეტიკური ხის მიხედვით საქართველოში გამოყოფული ვირუსები მიკუთვნებიან ძირითადად აღმოსავლეთ ატლანტიკის სამიგრაციო მარშრუტზე მოცირკულირე ვირუსების კლადას. H2N3 H1N1 H10N7 ქვეტიპის ვირუსები რომელთა მასპინძელსაც გარეული იხვები წარმოადგენენ უმეტესწილად ერთიანდება ცენტრალურ აზიის სამიგრაციო მარშრუტზე მოცირკულირე ვირუსებთან. H13N8 და H13N6 ქვეტიპის ვირუსები რომელთა მასპინძლებიც თოლიები არიან აღმოსავლეთ ატლანტურ სამიგრაციო მარშრუტზე იზოლირებულ ვირუსებთან (სურ 44, რუკა 12).



რუკა 12. საქართველოში გარეული იხვიდან და თოლიიდან იზოლირებული გრიპის ვირუსების უახლოესი ნათესავების გავრცელება M და NP გენის ფილოგენეტიკური ხის

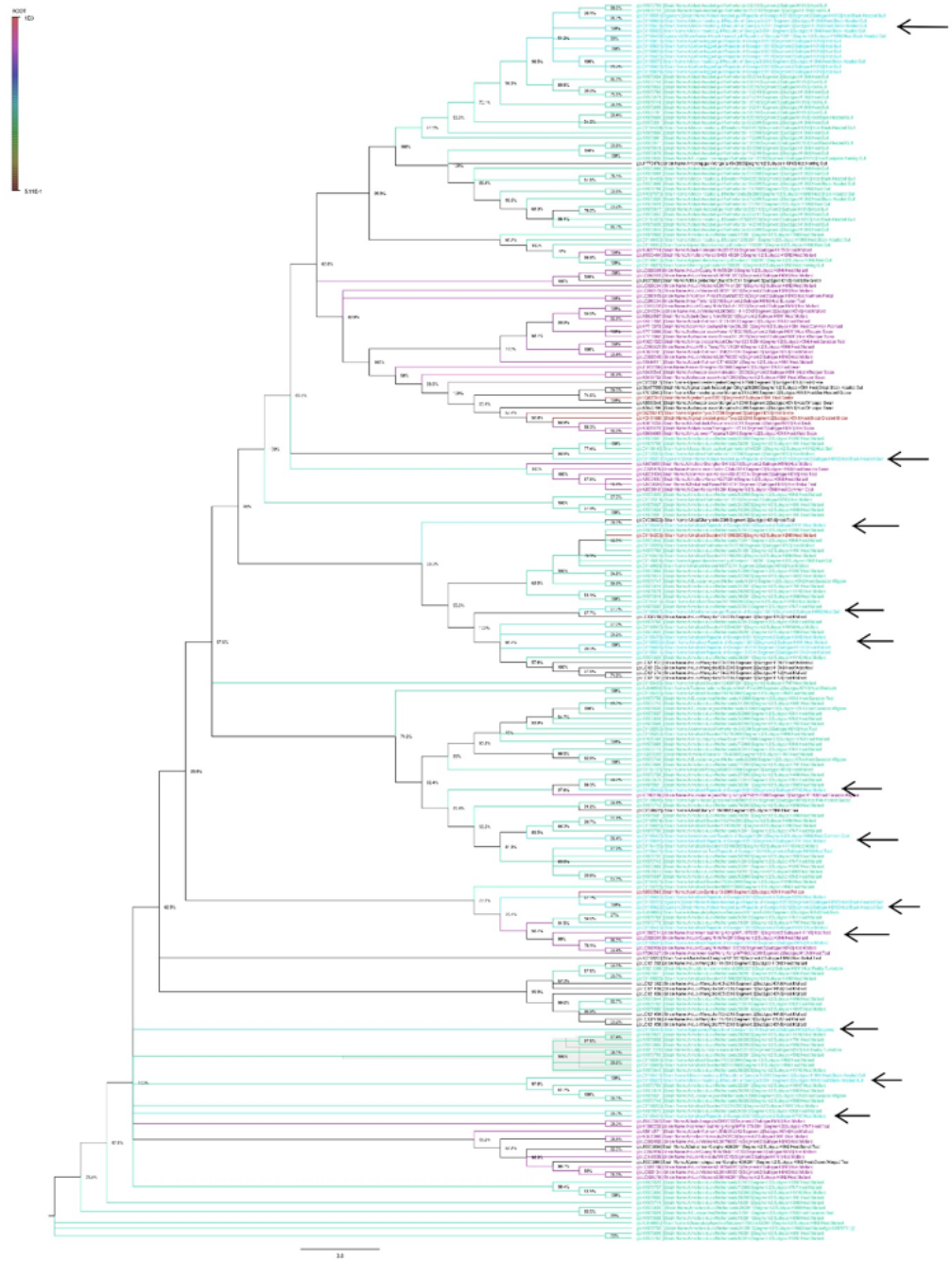
მიხედვით. ოთხკუთხედით მოცემულია NP გენის მიხედვით ხოლო სამკუთხედით M მიხედვით ვირუსების უახლოესი ნათესავები. სხვადასხვა ფერის პოლიგონები განსაზღვრავს ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტებს (პაპკიაური, 2017).



სურათი 44. მაქსიმუმ ლაიქლიჰუდის მეთოდით აგებული NP გენის ფილოგენეტიკური ხე. ხის კლადები შეღებილია ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტების მიხედვით (რუკა 2). შავი ისრებით მითითებულია საქართველოში მოპოვებული სინჯების მდებარეობა ხეში (პაპკიაური, 2017).

ჩვენს მიერ აგებულ PB1 გენის ფილოგენეტიკურ ხეზე საქართველოში გამოყოფილი ვირუსები ძირითადად აღმოსავლეთ ატლანტიკის

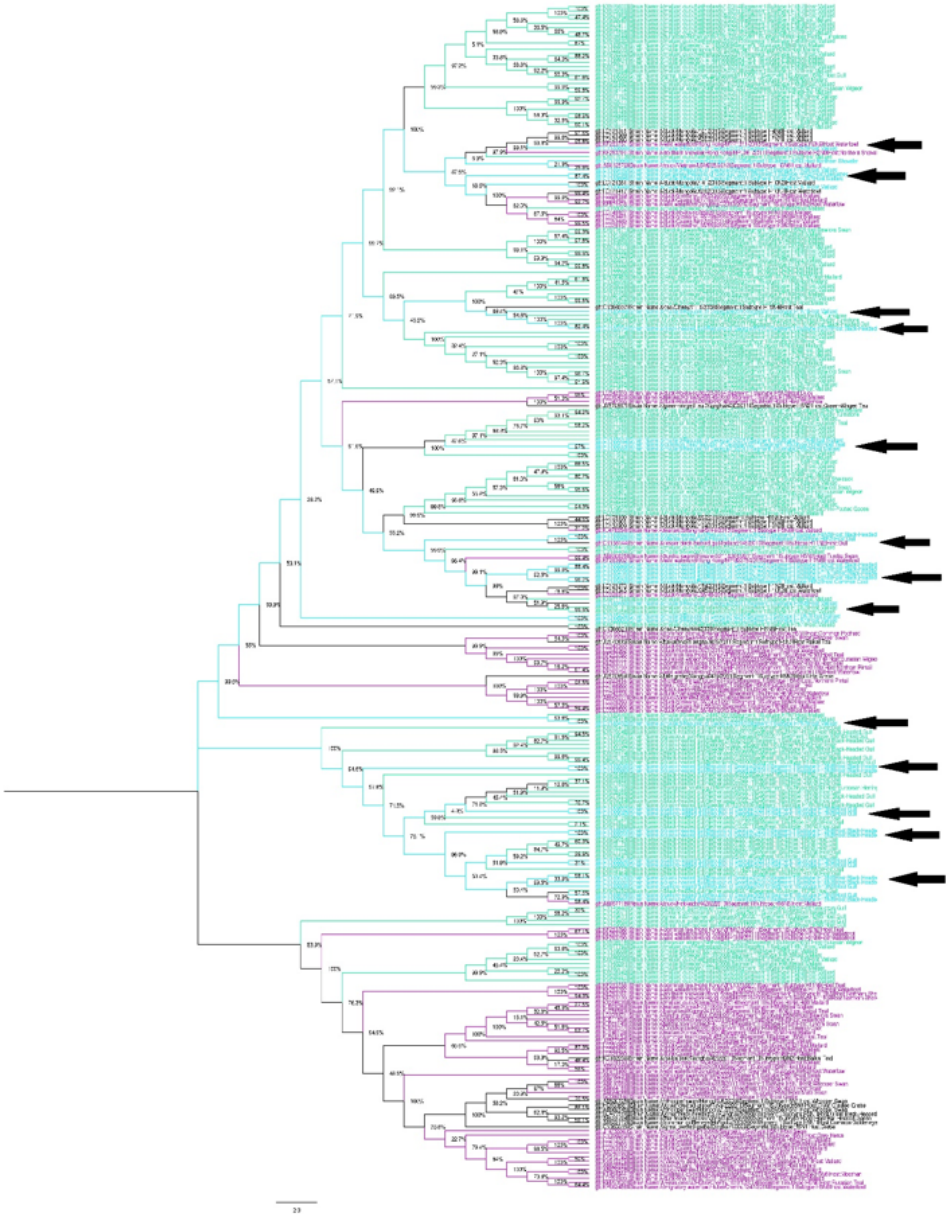
სამიგრაციო მარშრუტზე მოცირკულირე ვირუსებთან გაერთიანდნენ. 2011-2013 წლებში საქართველოში გამოყოფილი თოლიის ვირუსები H13N8, H13N6, H16N3 გაერთიანდნენ და შევიდნენ იმავე კლადაში სადაც ჰოლანდიასა და შვედეთის H13N6 H16N3 ქვეტიპეის ვირიუსები მოხვდნენ. ჩვენს მიერ 2011 წელს საქართველოში იზოლირებული H3N8-ი გაერთიანდა 2010 წელს ჰოლანდიაში მოცირკულირე H4N6-თან. 2011 წელს გამოყოფილი იგივე H3N8 ვირუსი 2009 წელს შვედეთში გამოყოფილ H11N9 ქვეტიპის ვირუსთან გაერთიანდა. 2010 წელს იზოლირებული H10N7 ვირუსი კი გაერთიანდა ჰოლანდიაში მოცირკულირე H7N7 ქვეტიპის ვირუსებთან (სურ45, რუკა 13).



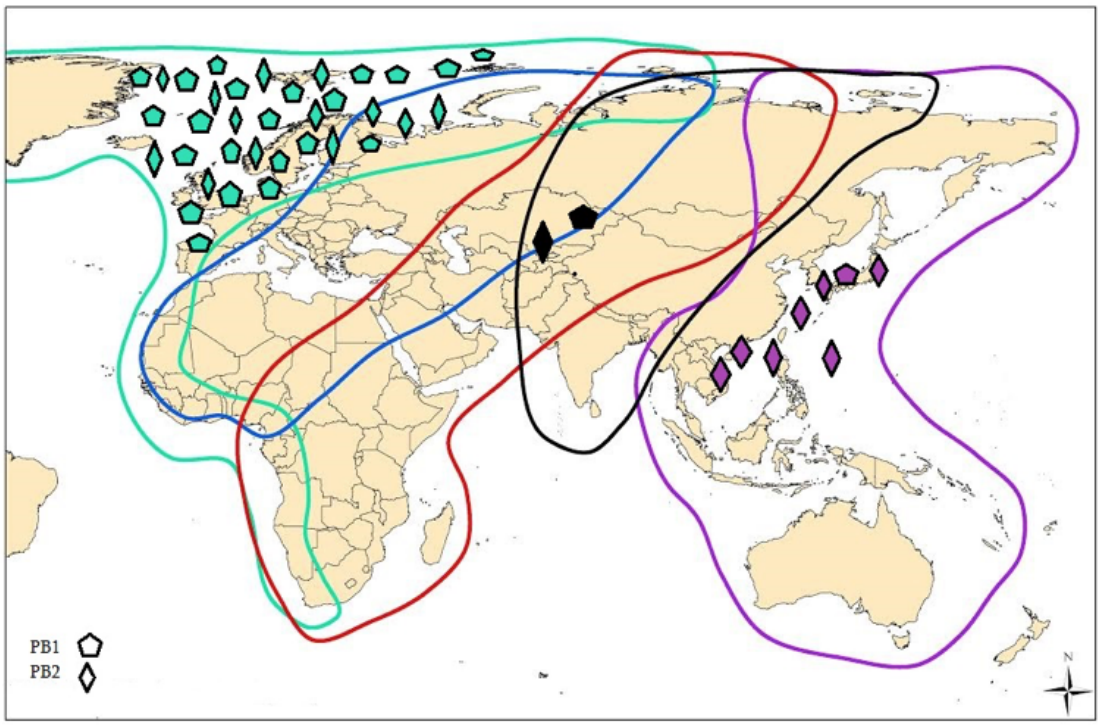
სურათი 45. მაქსიმუმ ლაიქლიჰუდის მეთოდით აგებული PB1 გენის ფილოგენეტიკური ხე. ხის კლადები შეღებილია ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტების მიხედვით (რუკა 2). შავი ისრებით მითითებულია საქართველოში მოპოვებული სინჯების მდებარეობა ხეში (პაპკიაური, 2017).

ჩვენ ასევე ავაგეთ ფილოგენეტიკური ხე PB2 გენის მიხედვით. ამ ხის მიხედვით H13N8, H13N6 ქვეტიპების ვირუსების უახლოესი ნათესავები საქართველოში მოცირკულირე იგივე ქვეტიპის ვირუსები არიან, ისინი არ წარმოქმნიან გამოცალკევებულ დიდ კლადას და ჰოლანდიასა და

შვედეთში გამოყოფილ იგივე ქვეტიპებთან ჯგუფდებიან. აღსანიშნავია, საქართველოში იზოლირებული H13N8 ვირუსი, რომელიც PB2 გენის მიხედვით ჰოკიადოში (იაპონია) მოცირკულირე H16N3-თან ერთიანდება (სურ 46, რუკა 13).

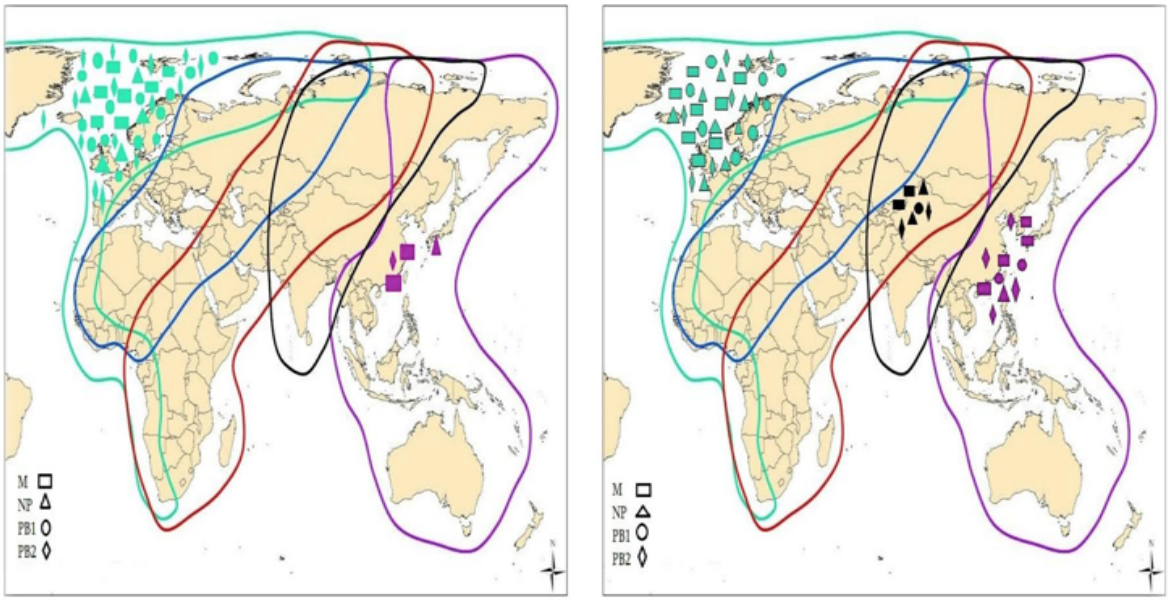


სურათი 46. მაქსიმუმ ლაიქლიჰუდის მეთოდით აგებული PB2 გენის ფილოგენეტიკური ხე. ხის კლადები შეღებილია ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტების მიხედვით (რუკა 2). შავი ისრებით მითითებულია საქართველოში მოპოვებული სინჯების მდებარეობა ხეში (პაპკიაური, 2017).



რუკა 13. საქართველოში გარეული იხვიდან და თოლიიდან იზოლირებული გრიპის ვირუსების უახლოესი ნათესავების გავრცელება PB1 (მრავალკუთხედი) და PB2 (რომბი) გენის ფილოგენეტიკური ხის მიხედვით. სხვადასხვა ფერის პოლიგონები განსაზღვრავს ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტებს (პაპკიაური, 2017).

იმისათვის რომ უკეთ დავენახა განსხვავება მასპინძელ თოლიებსა და იხვებში მოცირკულირე ვირუსებს შორის დავამზადეთ რუკები სადაც თვითოეული მასპინძელის ყველა სეგმენტი გავაერთიანეთ (რუკა 14).

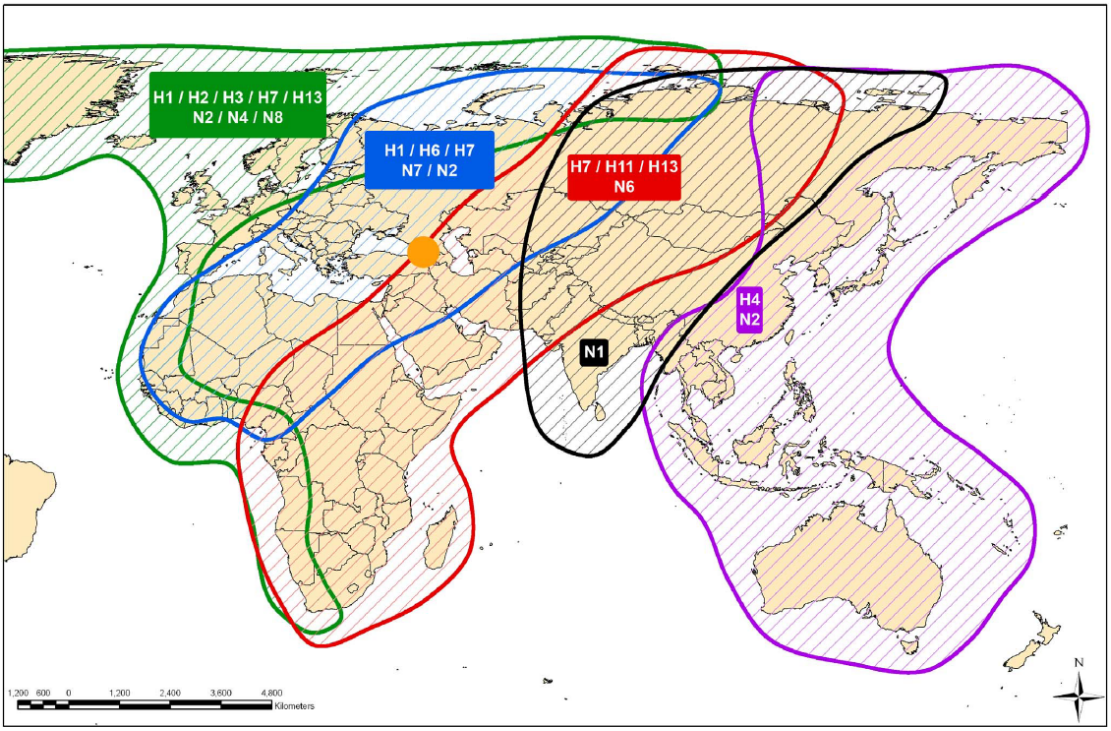


რუკა 14. საქართველოში თოლიიდან (მარცხენა) და გარეული იხვიდან (მარჯვენა) იზოლირებული გრიპის ვირუსების უახლოესი ნათესავების გავრცელება ყველა გაანალიზებული გენის ფილოგენეტიკური ხის მიხედვით. სხვადასხვა ფერის პოლიგონები განსაზღვრავს ფრინველთა სამიგრაციო მარშრუტებს (პაპკიაური, 2017).

როგორც ანალიზიდან გამოჩნდა საქართველოში თოლიებიდან იზოლირებული ვირუსები წარმოქმნიან თავის კლადას და ასევე ყოველთვის ჯგუფდება მსოფლიოს სხვა ადგილებში თოლიებისაგან იზოლირებული ვირუსების კლადაში. ცნობილია რომ H16 და H13 ვირუსები არის სახეობა სპეციფიური და მხოლოდ თოლიებს ემართებათ. თუმცა ჩვენმა კვლევამ ასევე აჩვენა რომ საქართველოში თოლიებიდან იზოლირებული H9 და H11 ვირუსებიც, ასევე ქმნიან, იხვების შესაბამისი ვირუსებიდან დამოუკიდებელ კლადებს. 2010 წელს ტბის ტოლიიდან იზოლირებული H11N1 ვირუსი დაჯგუფდა ყაზახეთში თოლიიდან იზოლირებულ ვირუსთან და შექმნეს ევრაზიული H11 იხვებში

მოცირკულირე ვირუსებისგან განსხვავებული კლადა. შეიძლება ვივარაუდოთ რომ საქართველოში და ყაზახეთში იზოლირებული H11 ვირუსები წარმოადგენენ თოლია სპეციფიურ H11 ვირუსების ჯგუფს მსგავსად H13 და H16 ვირუსებისა. დაკვირვებადი განსხვავებები თოლიებსა და იხვის ვირუსებს შორის მნიშვნელობას სძენს თოლიების ჯგუფს, როგორც ფრინველის გრიპის რეზერვუარს და გადამტანს. ფრინველის გრიპის გავრცელების მონიტორინგისა და რისკების შეფასების კვლევებში მნიშვნელოვანია გათავლისწინებული იყოს თოლიების ჯგუფიც.

საქართველოს, გეოგრაფიული მდებარეობის გამო, თამაშობს მნიშვნელოვან როლს ფრინველის გრიპის გავრცელებაში. ამიტომ მოსალოდნელია, რომ საქართველოში იზოლირებული ვირუსები უნდა ჯგუფდებოდნენ ევრაზიის სხვა ადგილებზე იზოლირებული ვირუსებთან. რუკა 15 ზე მოცემულია საქართველოში იზოლირებული ფრინველის გრიპის ვირუსების უახლოესი ნათესავების გავრცელება HA და NA გენის მიხედვით.

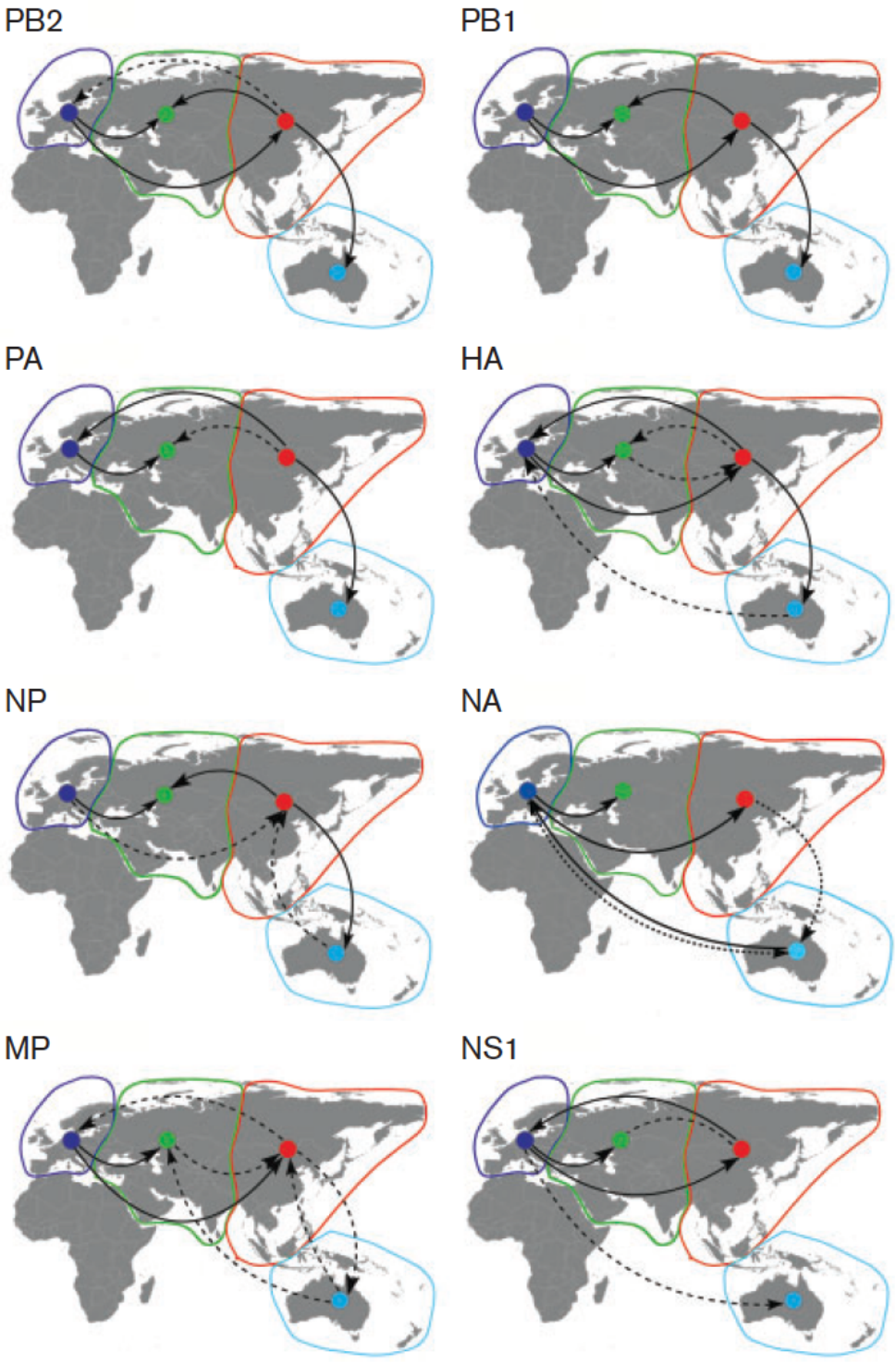


რუკა 15. საქართველოში იზოლირებული ფრინველის გრიპის ვირუსების უახლოესი ნათესავების გავრცელება. დაშტრიხული ხაზებით მოცემულია ფრინველთა გადაფრენის

მარშრუტები ევრაზიაში (რუკა 2). ოთხკუთხა ყუთებში მითითებულია საქართველოში იზოლირებილი ვირუსის უახლოესი ნათესავი HA და NA სეგმენტის მიხედვით.

საქართველოში იდენტიფიცირებული პოზიტიური სინჯები გავგზავნეთ ერასმუსის სამედიცინო ცენტრის ვირუსოლოგიის დეპარტამენტში, სადაც 33 იზოლირებული ვირუსებიდან გამოიყო რნმ და დავასექვენირდა ვირუსის მთელი გენომი. ეს ვირუსები შევადარეთ საერთაშორისო გრიპის მონაცემთა ბაზაში არსებულ გრიპის 211 ვირუსთან. ეს ვირუსები მოპოვებული იყო მთელს ევრაზიაში და არსებობდა მათი მთელი გენომის სექვენსი. ჩვენ დავაჯგუფეთ ეს სინჯები დასავლეთ ევრაზიის, ცენტრალური ევრაზიის, აღმოსავლეთ ევრაზიის და ოკეანიის გჯუფებად რადგან სინჯების რაოდენობა იო შედარებიტ მცირე დიდი მასშტაბის დაჯგუფებისათვის. მიგრაციის სიხშირე სხვადასხვა გეოგრაფიულ რეგიონებს შორის გამოვთვალეთ ასიმეტრიული გადაცემის მოდელით (Asymmetrical state transition model). პირობების სიმრავლის გამო გამოვიყენეთ ბაიესისეული სტოქასტური ძებნის ცვლადების შერჩევის მეთოდი (BSSVS) რათა შეგვემცირებინა პარამეტრების რაოდენობა იმ პარამეტრებამდე რომლებსაც არანულოვანი გადაცემის სიხშირე ახასიათებდა. BSSVS შედეგები შესაძლებლობას იძლევა გამოვთვალოთ ბაიესის ფაქტორი (BF) გეოგრაფიულ რეგიონებს შორის ვირუსის მიგრაციის სიძლიერე.

შედეგად მივიღედ შემდეგი სურათი (რუკა 16):



რუკა 16. ფრინველის გრიპის 8 სეგმენტის მიხედვით გამოანგარიშებული ვირუსის მიგრაციის სცენარები. მუქი ისრებით მიგრაციის სცენარი, რომელსაც ბაიესის ფაქტორით მაღალი მხარდაჭერა აქვს BF>100, და წყვეტილი ისრებით მიგრაციის სცენარი, რომელსაც შედარებით დაბალი 8<BF<100 ბაიესის ფაქტორით აქვს მხარდაჭერა.

თავი 4. დისკუსია

თოლიები

დიდი თეთრთავა თოლიების ჯგუფის სახეობათწარმოშობა შედარებით ახალი ევოლუციური მოვლენაა. ამის გამო სახეობებს შორის ჰიბრიდიზაცია აქტიურად მიმდინარეობს (Liebers et al., 2001; Crochet et al., 2003; Gay et al., 2007; Sternkopf et al, 2010; Sonsthagen et al., 2012; Pons et al., 2014). თოლიის მაღალ ტაქსონებს (გვარი, ოჯახი) შორის ფილოგენეტიკური კავშირები კარგადაა დადგენილი, ხოლო სახეობებს შორის ფილოგენეტიკური კავშირები ინტროგრესიის მაღალი დონის გამო ხშირ შემთხვევაში გაურკვეველია (Ericson et al., 2003; Fain and Houde, 2007; Pons et al., 2005), ამის მიზეზი ჰიბრიდიზაცია, სიმპატრული გავრცელება და მსგავსი მორფოლოგიური ნიშანთვისებებია. მიუხედავად იმისა, რომ არსებობს მოლეკულურ გენეტიკური კვლევები დიდი თეთრთავა თოლიების სახეობათა კომპლექსის სახეობათშორისი ფილოგენეტიკური კავშირების დასადგენად, კავკასიაში მსგავსი კვლევები არ ჩატარებულა. თოლიების მიკუთვნება კონკრეტულ მობუდარ პოპულაციებთან მათი გადაადგილებების შესასწავლად ასევე არ ჩატარებულა. ჩვენმა კვლევებმა აჩვენა: 1. ჯავახეთის ზეგანზე და სომხეთში მობუდარი სომხური თოლიები წარმოადგენენ ერთიან ჯგუფს და ისინი არ ზამთრობენ შავი ზღვის აღმოსავლეთ სანაპიროზე; 2. უმეტესობა შავი ზღვის მოზამთრე თოლიებისა ერთიანდებიან ჩრდილო - დასავლეთ აზიის მობუდარ სახეობებთან და მხოლოდ მცირე ნაწილი ატლანტურ-ხმელთაშუაზღვისპირეთის დიდ თეთრთავა თოლიებთან; 3. შავი ზღვის აღმოსავლეთ სანაპიროზე მოზამთრე დიდი თეთრთავა თოლიები მიგრირებენ დასავლეთ და ჩრდილო დასავლეთი აზიიდან თუმცა მცირე ნაწილი ასევე მოფრინავს ხმელთაშუაზრვისპირეთიდან;

მიღებული შედეგები არის რაოდენობრივი რაც აუცილებელია შემდგომში ფრინველის გრიპის ვირუსის ან სხვა დაავადებების გავრცელების რისკების შეფასებისთვის.

იხვები

კვლევის მთავარი მიზანი იყო დაგვედგინა მოზამთრე გარეულ იხვები, რომელი სამიგრაციო მარშრუტიდან მოფრინავენ კოლხეთის და მტკვრის დაბლობის გამოსაზამთრებელ ტერიტორიებზე, ასევე დაგვედგინა თუ ზამთრობენ გარეული იხვები ჯავახეთის მობუდარი პოპულაციიდან კოლხეთის და მტკვრის დაბლობის გამოსაზამთრებელ ტერიტორიებზე. ამ მიზნის მისაღწევად ჩვენ გამოვიყენეთ მოლეკულურ გენეტიკური მეთოდი, როგორც მიტოქონდრიული დნმ შესწავლით ასევე ბირთვული მარკერების გამოყენებით. როგორც მიღებულმა შედეგებმა აჩვენა გარეული იხვების ევრაზიული პოპულაცია ნაკლებად სრტუქტურირებულია. ორი კარგად გამოყოფილი მიტოქონდრიული ჰაპლოჯგუფი (ა და ბ) გავრცელებულია ევრაზიის და ჩრდილო ამერიკის კონტინენტებზე. ჰაპლოჯგუფების გაყოფა და შემდგომ იზოლირება მოხდა 20 – 75 ათასი წლის წინ ბერინგის სრუტის გავლით. მას შემდეგ გენთა მიმოცვლა ამ ჰაპლოჯგუფებს შორის ძალიან დაბალია და ძირითადად ევრაზიიდან ჩრდ. ამერიკის მიმართულებით მიმდინარეობს. აქედან გამომდინარე უმეტესობა ევროპის ყველა და აბსოლიტური უმეტესობა აზიის გარეულ იხვებს გააჩნიათ ა ჰაპლოჯგუფი თუმცა ბ ჰაპლოჯგუფი “ჟონავს” ევრაზიის კონტინენტის უკიდურეს აღმოსავლეთ ნაწილში. აღმოსავლეთ აზიური ბ ჰაპლოჯგუფის გარეული იხვების არსებობა აიხსნება ორი მოვლენით ერთ არის ჩრდ. ამერიკული ბ ჰაპლოჯგუფის გარეული იხვების მიგრაციით აღმოსავლეთ აზიაში ალეუტის კუნძულების გავლით და მეორე არის გარეული იხვის, ახლო მონათესავე სახეობა აღმოსავლურ ხალიან–ნისკარტა იხვთან ჰიბრიდიზაციით. ორივე ახსნის მიხედვით გარეულ იხვებში ბ

ჰაპლოჯგუფი მხოლოდ აღმოსავლეთ აზიაში გავრცელებულ ფრინველებში დასტურდება.

ჩვენს მიერ განხორციელებულმა კვლევებმა მოგვცა საინტერესო სურათი: კოლხეთის დაბლობზე მოზამთრე იხვები ყველა დაჯგუფდა ა ჰაპლოჯგუფში და ფილოგენეტიკურ ხეზე დაუჯგუფდა ევროპის (ბრიტანეთი), დასავლეთ ციმბირის (არხანგელსკი) და სამხრეთ-დასავლეთ ციმბირის იხვებს. ეს გვაძლევს საშუალებას ვივარაუდოთ, რომ აღმოსავლეთ შავი ზღვის სანაპიროზე ზამთრობენ გარეული იხვები რომელთა უმრავლესობა ბუდობს დასავლეთ ევრაზიის კონტინეტზე. მტკვრის დაბლობზე ჩვენს მიერ აღებულ სიჯებში აღმოჩნდა ორი მორფოლოგიურად მდედრი გარეული იხვის ინდივიდი, რომელიც მიტოქონდრიული დნმ-ს მიხედვით დაუჯგუფდა აღმოსავლურ ხალიან–ნისკარტა იხვთან. აღსანიშნავია რომეს სახეობა მხოლოდ უკიდურეს აღმოსავლეთ აზიაში ბუდობს და განიცდის ჰიბრიდიზაციას ადგილობრივ გარეულ იხვებთან. ეს შედეგი საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ მტკვარ - არაქსის დაბლობზე ზამთრობენ იხვები, რომლებიც გარდა დასავლეთ ევრაზიისა (აღმოსავლეთ ატლანტიკის, შავი ზღვა-ხმელთაშუა ზღვისპირეთის, დასავლეთ აზია აღმოსავლეთ აფრიკის სამიგრაციო მარშრუტები) ასევე ცენტრალურ და აღმოსავლეთ აზიაშიც ბუდობენ (ცენტრალური აზიის სამიგრაციო მარშრუტი). ბირთვული დნმ-ს შესწავლის შედეგებმა კიდევ უფრო ნათელი გახადა მოზამთრე და მობუდარ პოპულაციათა სურათი. ჯავახეთის ზეგანის მობუდარ იხვებს და შავი ზღვის მოზამთრე იხვებს შორის არის სარწმუნო იზოლაცია. რაც საშუალებას გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ მობუდარი გარეული იხვები ჯავახეთიდან არ იყენებენ შავი ზღვისპირეთს გამოსაზამთრებლად. მათი გამოსაზამთრებელი ტერიტორია არის ან უფრო სამხრეთით ხმელთაშუაზღვისპირეთი და შუამდინარეთი ან კიდევ მტკვარ-არაქსის დაბლობი და კასპიის ზღვის სამხრეთ სანაპირო.

ჩვენი კვლევების შედეგად დადგინდა, რომ მოზამთრე გარეული იხვები შავი ზღვის აღმოსავლეთ სანაპიროზე ძირითადად ჩრდილოეთ ევროპისა და დასავლეთ აზიის მობუდარი პოპულაციებიდან არიან. მტკვრის დაბლობის მოზამთრე გარეული იხვები გარდა ჩრდილოეთ ევროპის და დასავლეთ აზიისა ასევე ცენტრალური და აღმოსავლეთ აზიის მობუდარი პოპულაციიდანაც არიან. ჯავახეთის ზეგანის მობუდარი პოპულაციის გარეული იხვები გამოსაზამთრებლად არ იყენებენ კოლხეთის დაბლობს და სავარაუდოდ ზამთრობენ კასპიის ზღვის სამხრეთით და მტკვარ-არაქსის დაბლობზე ან კიდევ უფრო სამხრეთით ხმელთაშუაზღვისპირეთში და შუამდინარეთში.
ჩვენი ნაშრომი ხაზს უსვამს კავკასიის ტერიტორიის მნიშვნელობას ფრინველის გრიპის და სხვა დაავადებების გავრცელებაში.

ფრინველის გრიპი გარეულ ფრინველებში

ფრინველის გრიპის გავრცელება დამოკიდებულია წყალმცურავ ფრინველთა სასიცოცხლო ციკლებზე და ეკოლოგიურ ფაქტორებზე. ბუდობის პერიოდში (ინკუბაცია, წიწილების გაზრდა) წყალმცურავი ფრინველები ერთმანეთს თავს არიდებენ და დაბალი სიმჭიდროვით ბუდობენ. ასევე ახლად გამოჩეკილ წყალმცურავი ფრინველების წიწილებს გააჩნიათ დედისგან თადაყოლილი იმუნიტეტი, რაც მათ სიცოცხლის პირველ ეტაპზე იცავს. გამრავლების სეზონის ბოლოს, ახალგაზრდები ფრენას სწავლობენ და მიგრაციისთვის ემზადებიან. ამ დროს ისინი იწყებენ ჯგუფების შექმნას და კონცენტრირდებიან დიდ გუნდებად. პრემიგრაციულ გუნდებად შეკრული წყალმცურავი ფრინველები აქტიურად იკვებებიან რათა დაიგროვონ ცხიმის ფენა მიგრაციისთვის. ამ პერიოდისათვის მათ აღარ გააჩნიათ თანდაყოლილი იმუნიტეტი და სიმჭიდროვეც დრამატულად იზრდება. ფრინველებში გრიპის გავრცელება ფელკალურ ორალური გზით ხორციელდება. სწორედ ეს ფაქტორები ქმნის საუკეთესო პირობებს ფრინველის გრიპის ვირუსის

გასავრცელებლად. პრემიგრაციული კონგრეგაციების დროს ხდება პირველი ეპიდემია წყალმცურავ ფრინველებში რაც იმუნიტეტის არმქონე ახალგაზრდების სიმრავლით და მარალი სიმჭიდროვითაა გამოწვეული. შემდგომ ფრინველები იწყებენ მიგრაციას გუნდებად. მიგრაციის პერიოდში ისინი ჩერდებიან წყალსატევებზე სადაც ისვენებენ, იკვებებიან ენერგიის აღსადგენად და აგრძელებენ მიგრაციას გამოსაზამთრებელ ადგილებამდე. გამოსაზამთრებელ ადგილებზე წყალმცურავი ფრინველები სხვადასხვა მობუდარი პოპულაციებიდან იკრიბებიან უფრო დიდ გუნდებად. სამიგრაციო და გამოსაზამთრებელ ადგილებზე წყალმცურავი ფრინველები სხვა მობუდარი პოპულაციებიდან ხვდებიან ერთმანეთს და სწორედ ამ დროს ხდება ფრინველის გრიპის ვირუსის სხვადასხვა შტამების მიმოცვლა. ამ პერიოდში ხდება მეორე უფრო დაბალი ინტენსივობის გრიპის ეპიდემია. საგაზაფხულო მიგრაცია დროში უფრო გაწელილია და მაშინ როცა ზოგიერთი სახეობის ფრინველი ჯერ კიდევ ზამთრობს სხვა სახეობები უკვე იწყებენ მიგრაციას. ამ დროს მიგრანტ ფრინველებს შემოაქვთ მოზამთრე პოპულაციაში განსხვავებული შტამის ფრინველის გრიპის ვირუსები რამაც შესაძლოა შემდეგი ეპიდემია გამოიწვიოს. საქართველოს ტერიტორიაზე ფრინველის გრიპის გავრცელება განპირობებულია მასპინძელი სახეობების (გარეული წყალმცურავი და წყალთანა ფრინველები) სეზონური რიცხოვნობის დინამიკით.

ჩვენი საკვლევი ტერიტორიები განსხვავდება იქ ფრინველთა რიცხოვნობის დინამიკით და სახეობათა შემადგენლობით.

ჯავახეთის ზეგანზე წყალმცურავი ფრინველები ბუდობენ, გვხვდებიან საგაზაფხულო და საშემოდგომო მიგრაციების დროს. ზამთარში წყალსატევები იყინება და აქ წყალმცურავი ფრინველები არ იზამთრებენ. იხვები ჯავახეთის ზეგანზე ბუდობას საკმაოდ გვიან ივნისის შუა ან ბოლო პერიოდში იწყებენ და მათი ბარტყები ფრენას და დამოუკიდებლად ცხოვრებას აგვისტოში იწყებენ. ისინი გუნდებად იკრიბებიან სექტემბრის

დასაწყისში რასაც ემთხვევა ჯავახეთის ტბებზე პირველი მიგრანტების გამოჩენაც.

სურათ 25 -ზე გამოსახული გრაფიკიდან ჩანს, რომ ბუდობის პერიოდში პირველი გრიპით დასნებოვნების შემთხვევები ჩნდება ბუდობის დასრულებისას და ეპიდემია შემოდგომის პრემიგრაციული აგრეგაციების და მიგრანტი იხვების შემოფრენისას ხდება. აღსანიშნავია რომ იხვების საგაზაფხულო მიგრაცია ჯავახეთში საკმაოდ გვიან მიმდინარეობს და სიმჭიდროვე დაბალია, ამიტომაც გრიპით დასნებოვნების შემთხვევებიც ცოტაა.

ჩვენ გამოვიკვლიეთ 4 ტერიტორია, რომელიც ყველაზე მნიშვნელოვანია წყლის ფრინველთათვის საქართველოში.

ჩვენს მიერ გამოკვლეული ტერიტორიებიდან ჯავახეთის ზეგანი ერთადერთია სადაც, სხვა საკვლევ ტერიტორიებთან შედარებით, მობუდარ წყალმცურავ ფრინველთა სიმჭიდროვე მაღალია. ჯავახეთის ზეგანზე ჩვენი მოვიპოვეთ სინჯები მობუდარი სომხური თოლიის კოლონიიდან როგორც ბუდობის ასევე საშემოდგომო და საგაზაფხულო მიგრაციის პერიოდში. ასევე გავსინჯეთ ზეგანის ტბებზე მობუდარი და მიგრანტი იხვების პოპულაცია. თოლიების და იხვების შედეგების ანალიზმა განსხვავებული შედეგი გვაჩვენა (სურ 26, 27). ჯავახეთში სომხური თოლია მაისის ბოლოს იწყებს ბუდობას და ბუდობს მჭიდრო კოლონიებად. ჩვენ ვსინჯავდით თოლიებს ტბა მადატაფაზე არსებულ კოლონიაზე რომლის რიცხოვნობაც მერყეობს 500-2000 მობუდარ ინდივიდამდე. თოლიები მოფრინავენ გამოსაზამთრებელი ტერიტორიიდან მაისში და მალევე იწყებენ ბუდობას. ამ დროს ვიღებდით სინჯებს ზრდასრული თოლიებიდან. იმავე კოლონიაზე, ჩვენ ასევე ვიწყებდით სინჯების აღებას ახალგაზრდა თოლიებიდან გამოჩეკვიდან 2 კვირის შემდეგ და ვაგრძელებდით სინჯების აღებას სანამ ისინი არ დატოვებდნენ ჯავახეთის ზეგანს. ჩვენმა კვლევებმა აჩვენა, რომ გაზაფხულზე ზრდასრული თოლიების გრიპის ვირუსით დასნებოვნების

წილი იყო ძალიან დაბალი. მას შემდეგ რაც თოლიის ბარტყები დაკარგავდნენ თანდაყოლილ იმუნიტეტს და ისევ რჩებოდნენ საბუდარ კოლონიაზე მაღალი სიმჭიდროვით კოლონიაში პირველი ფრინველის გრიპის ეპიდემია იწყებოდა. ზაფხულის ბოლოს ახალგაზრდა თოლიები ტოვებდნენ კოლონიას და მათი სიმჭიდროვე მცირდება ფრინველის გრიპის ვირუსი მატ პოპულაციაში ნარჩუნდება დაბალ ნიშნულზე (სურ 26).

ფრინველის გრიპის განსხვავებული დინამიკა შეიმჩნევა ჯავახეთის ზეგანის იხვებში. საკვლევ ტერიტორიაზე მობუდარი იხვები გამოსაზამთრებელი ადგილებიდან მოფრინავენ დაწყვილებულები მცირე გუნდებით. ამ დროს ისინი შედარებით იზოლირებული არიან ერთმანეთისგან და მჭიდრო გუნდებს არ ქმნიან. ბუდობის დაწყებისთანავე ისინი საბუდარ ტერიტორიებს იკავებენ და სხვა იხვებს არიდებენ თავს. იხვები ჯავახეთში შედარებით გვიან (ივნისი) იწყებენ ბუდობას. მათი წიწილები დამოუკიდებლად ფრენას აგვისტოში იწყებენ. სექტემბრიდან ისინი იწყებენ პრემიგრაციულ გუნდებად გაერთიანებას ერთობლივად კვებას. ამ დროს ჯავახეთის ტბებზე ჩნდებიან ჩრდილოეთის პოპულაციის მიგრანტი იხვებიც. ფრინველის გრიპის პირველი ეპიდემიაც სწორედ შემოდგომით ხდება (სურ 27). ჯავახეთის ზეგანზე ფრინველის გრიპის დინამიკას სწორედ ფრინველთა ეს ორი ჯგუფი განაპირობებს. აქ ფრინველის გრიპით დასნებოვნების წილი დაბალია გაზაფხულზე როდესაც არც თოლიების და არც იხვების ნაივური პოპულაციის ზომა და სიმჭიდროვე არ არის დიდი. შემდგომ ბუდობის პერიოდში ახალგაზრდა თოლიების მჭიდრო პოპულაცია განაპირობებს ჯავახეთში გრიპის ვირუსის ცირკულირებას და უკვე შემოდგომის დასაწყისში იხვების პრემიგრაციული კონგრეგაციებში ხდება პანდემია რომელსაც მიგრანტი იხვების მიერ შემოტანილი ვირუსებიც ემატება (სურ 25).

ჩვენი საკვლევი ტერიტორიებიდან შავი ზღვის სანაპიროს წყალჭარბი ტერიტორიები, ჭოროხის დელტა და მტკვრის დაბლობის წყალსატევები წარმოადგენს, წყალმცურავ ფრინველთათვის, მნიშვნელოვან სამიგრაციო და გამოსაზამთრებელ ტერიტორიას. სამივე საკვლევ ტერიტორიაზე მობუდარი წყალმცურავების რიცხოვნობა დაბალია. წყალმცურავ ფრინველთა დაბალი სიმჭიდროვის პირობებში ფრინველის გრიპის ვირუსი ვერ ნარჩუნდება ფრინველთა პოპულაციებში. ეს განაპირობებს გრიპის ვირუსით მობუდარ ფრინველთა დასნებოვნების დაბალ ნიშნულს. მეორე მხრივ, შავი ზღვის სანაპიროს წყალჭარბი ტერიტორიებზე, ჭოროხის დელტასა და მტკვრის დაბლობის წყალსატევებზე წყალმცურავ ფრინველთა რიცხოვნობა იწყებს ზრდას შემოდგომის მიგრაციის დაწყებიდან აღწევს პიკს ზამთრობის პერიოდში და ისევ მცირდება გამრავლების პერიოდის მოახლოებასთან ერთად.

კოლხეთის დაბლობის წყალსატევებზე ფრინველის გრიპით დასნებოვნების დინამიკა თოლიებსა და იხვებში ასევე განსხვავებულ სურათს გვაძლევს. საკვლევ ტერიტორიაზე მობუდარი თოლიების რიცხოვნობა ძალიან დაბალია და შესაბამისად გრიპით დასნებოვნების წილიც ძალიან დაბალია. საშემოდგომო მიგრაციის დაწყებასთან ერთდ თოლიებში ფრინველის გრიპის დაფიქსირების წილიც იზრდება. შავი ზღვის სანაპიროზე ზამთრობისას თოლიების რიცხოვნობა მახიმალურ ნიშნულს აღწევს და ვირუსით დასნებოვნების წილიც კიდევ უფრო იზრდება. თუმცა საინტერესოა რომ გაზაფხულის მიგრაციის დროს მიუხედავად იმისა რომ თოლიების რიცხოვნობა არ იზრდება, დასნებოვნების წილი კიდევ უფრო იმატებს რაც მიგრანტი ფრინველების მიერ განსხვავებული შტამების შემოტანით უნდა იყოს განპირობებული (სურ 29).

ცოტათი განსხვავებული სურათი გვაქვს იხვების პოპულაციაში. მობუდარი იხვის პოპულაცია კოლხეთის დაბლობზე უმნიშვნელოა რაც ასევე აისახება გრიპით დასნებოვნების წილშიც. შემოდგომის მიგრაციის

დროს ხდება, როგორც იხვის რაოდენობის და სიმჭიდროვის ზრდა ასევე დასნებოვნების წილის მატება. ზამთრობისას იხვის რიცხოვნობა და სიმჭიდროვე მაქსიმუმს აღწევს, მაგრამ გამომუშავებული იმუნიტეტის გამო მოზამთრე იხვების პოპულაციაში გრიპით დასნებოვნების წილი შედარებით მცირდება. გაზაფხულის მიგრაციის პერიოდში მოზამთრე იხვებს უერთდებიან მიგრანტი იხვებიც რომლებსაც ახალი შტამების შემოაქვთ მოზამთრე პოპულაციაში რაც საგაზაფხულო ეპიდემიას იწვევს (სურ 30). ზოგად სურათს ფრინველთა ეს ორი (თოლიები, იხვები) ჯგუფი განაპირობებს. საშემოდგომო მიგრაციის დროს ხდება ფრინველის გრიპის პირველი ეპიდემია შემგედ ვირუსი ნარჩუნდება მოზამთრე ფრინველებში და საგაზაფხულო მიგრაციის დროს ხდება ახალი საგაზაფხულო ეპიდემია (სურ 28).

ჭოროხის დელტაზე გარეულ ფრინველებში ფრინველის გრიპის დინამიკას განსაზღვრავს თოლიის კოლონია. ტერიტორიაზე წყლის ფრინველები გვხვდებიან მთელი წლის განმავლობაში. კოლონია დაფუძნდა ბათუმის ნაგავსაყრელის არსებობის გამო და შედგება 3–5 ათასი ფრინველისაგან. კოლონია მრავალრიცხოვანია თუმცა მხოლოდ 20–30 წყვილი ბუდობს ყოველწლიურად მდინარე ჭოროხის დელტის კუნძულებზე. ახალგაზრდა, იმუნურად ნაივური ფრინველების სიმცირის გამო ბუდობის პერიოდში გრიპით დასნებოვნების წილი უმნიშვნელოა. აგვისტოს მეორე ნახევრიდან ჭოროხის დელტაში ათასობით წყლის ფრინველი იყრის თავს რასაც მოჰყვება ფრინველის გრიპის ეპიდემია. ზამთარში თოლიების სიმრავლის მიუხედავად დასნებოვნების წილი დაბალ ნიშნულზე ნარჩუნდება და საგაზაფხულო მიგრაციების დროს კიდევ უფრო იკლებს (სურ 31). წოროხის დელტაზე თოლიების სიმრავლის და გარეული იხვის მიგრანტი და მოზამთრე პოპულაციის ციმცირის გამო, ფრინველის გრიპის დინამიკას სწორედ თოლიები განაპირობებენ.

მსგავსი სურათია მტკვრის დაბლობზეც. აქაც სინჯების უმეტესობა მოპოვებული იყო თოლიებიდან ამიტომ გრიპის დინამიკაც სწორედ

თოლიების პოპულაციის დინამიკით არის განპირობებული. მობუდარი თოლიების პოპულაციაც მტკვრის დაბლობის წყალსატევებზეც უმნიშვნელოა სწორედ ეს განაპირობებს იმას, რომ ამ პერიოდში გრიპის ვირუსი თითქმის არ გვხვდება. საშემოდგომო მიგრაციის დაწყებიდან ხდება თოლიის რიცხოვნობის მატება და დასნებოვნების წილიც იზრდება. ზამთრობის დროს, როდესაც თოლიების რაოდენობა და სიმჭიდროვე მაღალია გრიპის ვირუსით დასნებოვნების წილი უნიშვნელოა. ასევე უნიშვნელოა ის გაზაფხულის მიგრაციების დროსაც (სურ 32). ასეთი დინამიკა შეიძლება აიხსნებოდეს იმით, რომ თოლიები რომლებიც მოფრინავენ გამოსაზამთრებლად გრიპით ავადდებიან საბუდარ ტერიტორიებზე სადაც მათ უვითარდებათ იმუნიტეტი. ზამთრობის გუნდების ჩამოყალიბების მერე მათ აღარ აქვთ შეხება სხვა სახეობის თოლიებთან და შესაბამისად გრიპის ვირუსის ახალ შტამებთან, ამიტომ მათი პოპულაციაში ეპიდემია აღარ ხდება.

ჩვენ ასევე მოვაგროვეთ სინჯები მენაპირე ფრინველებიდან. გრიპის დასნებონვების წილი ამ ფრინველებში ძალიან დაბალია და ძირითადად ფიქსირდება შემოდგომის მიგრციის დროს (სურ 39).

ფრინველის გრიპის განაწილებამ ფრინველების ეკოლოგიური ჯგუფების მიხედვით აჩვენა რომ საქართველოს ტერიტორიაზე ფრინველის გრიპის დინამიკას ძირითადად მდინარის იხვები და თოლიები განაპირობებენ. ასევე აღსანიშნავია, რომ სინჯვის დაბალი ინტენსივობის მიუხედავად ყვინთია იხვებში შედარებიტ მაღლი დასნებოვნების წილი აღმოჩნდა რაც ამ ჯგუფებში სინჯვის ძალისხმევის გაძლიერებას ითხოვს (სურ 41).

ჩვენმა კვლევამ აჩვენა რომ ფრინველის გრიპის დინამიკა გარეულ ფრინველებში გამოირჩევა ციკლურობით. ციკლის მაქსიმუმებს შორის ისევე, როგორც მინიმუმებს შორის 4 წელია. ეს არის მნიშვნელოვანი შედეგი რომელიც შესაძლებელს ხდის ფრინველის გრიპის გავრცელების რისკის პრედიქციას (სურ 23). ფრინველთა სასიცოცხლო ციკლების ბუდობის, საშემოდგომო მიგრაციის, ზამთრობის და საგაზაფხულო

მიგრაციის დაყოფის შედეგად აღმოჩნდა, რომ ბუდობის პერიოდში დასნებოვნების რისკი ყველაზე დაბალია ხოლო შემოდგომის მიგრაციის ყველაზე მაღალი. ზამთრობისას რისკი შედარებით იკლებს. დასნებოვნების დონე მოზამთრე პოპულაციაში ნარჩუნდება შედარებით მაღალ ნიშნულზე, მოზამთრე ფრინველთა მაღალი სიმჭიდროვის გამო. საგაზაფხოლო მიგრაციის დროს დასნებოვნებულობის წილი მხოლოდ კოლხეთის დაბლობზე იზრდება რაც განპირობებულია ამ პერიოდში იქ არსებული მოზამთრე ფრინველების მაღალი სიმჭიდროვით (სურ 24). კვლევამ აჩვენა, რომ იხვებში და თოლიებში ვირუსის გავრცელება უფრო მეტად ხდება საჭმლის მომნელებელი ტრაქტიდან ვიდრე სასუნთქი სისტემიდან რაც ეთანხმება სხვა კვლევების შედეგებსაც თუმცა მნიშვნელოვცანია რომ ჩვენი კვლევის შედეგად ის ფრინველები რომლებიც ავრცელებდნენ ვირუსს საჭმლის მომნელებელი ტრაქტიდან იშვიათად იყვნენ ვირუს პოზიტიურნი ტრაქეალურ სინჯზეც. ეს შედეგი ხაზს უსვამს სინჯის აღების დროს როგორც კლოაკალური ასევე ტრაქეალური სინჯის აღების აუცილებლობას.

ჩვენი კვლევის შედეგად, გარეულ ფრინველებში დავაფიქსირეთ 12 HA და 8 NA გრიპის ვირუსის ქვეტიპი. ქვეტიპების მაღალ მრავალფეროვნებას განპირობებს მასპინძელი სახეობების მრავალფეროვნება და ფრინველთა სხვადასხვა მობუდარი პოპულაციების მიერ გამოსაზამთრებელი და საიგრაციო ტერიტორიების გამოყენება.

კვლევის დროს მოხდა H9 და H11 ვირუსების იზოლირება თოლიებიდან. ეს ვირუსები ქმნიან იხვების შესაბამისი ვირუსებიდან დამოუკიდებელ კლადებს რაც ამ ქვეტიპების თოლიებში დამოუკიდებელ ცირკულირებაზე მიუთითებს.

საქართველოში გარეული ფრინველებიდან იზოლირებული გრიპის ვირუსის უახლოესი ნათესავები აღმოჩნდა ევრაზიის ყველა ნაწილიდან და სამიგრაციო მარშრუტიდან მოპოვებულ ვირუსები. როგორც ჩანს კავკასიის ტერიტორიაზე ხდება, ევრაზიის სხვადასხვა მობუდარი წყალმცურავი

ფრინველების პოპულაციებიდან მიგრანტი სახეობების შერავა. ეს საუკეთესო პირობებს ქმნის ფრინველის გრიპის ვირუსის სხვადასხვა შტამების მიმოცვლისათვის, რაც თავისთავად ვირუსებისათვის დამახასიათებელი გენეტიკური რეასორტმენტის გზით ახალი ქვეტიპების გაჩენას უწყობს ხელს.

თავი 5. დასკვნები

- ჯავახეთის ზეგანზე მობუდარი და შავი ზღვის სანაპიროზე მოზამთრე დიდი თეთრთავა თოლიების მიკროსატელიტური მარკერების AMOVA ანალიზიმა აჩვენა სარწმუნო იზოლაცია შავი ზღვის მოზამთრე და ჯავახეთის ზეგანის მობუდარ პოპულაციებს შორის
- ციტოქრომ ბ 735 bp მედიან ჯოინინგის ანალიზმა მიაკუთვნა 75% შავი ზღვის მოზამთრე პოპულაციის სინჯებისა დასავლეთ ცენტრალური აზიის ჯგუფს, 18.75% ატლანტურ-ხმელთაშუაზღვისპირეთის ჯგუფს ხოლო 6.25% ჯავახეთის ჯგუფს
- ყველა შავი ზღვის მოზამთრე თოლიის სინჯი გაერთიანდა L. cachinnans – ის ჯგუფთან; მობუდარი სომხური თოლიის სინჯებში შეიმჩნევა ჰაპლოჯგუფური მრავალფეროვნება თუმცაღა ჯგუფდება სხვა სომხურ თოლიებთან
- აღმოსავლეთ შავი ზღვის სანაპიროზე ზამთრობენ გარეული იხვები რომელთა უმრავლესობა ბუდობს დასავლეთ ევრაზიის კონტინეტზე. ხოლო, მტკვარ - არაქსის დაბლობზე ზამთრობენ იხვები, რომლებიც გარდა დასავლეთ ევრაზიისა (აღმოსავლეთ ატლანტიკის, შავი ზღვა-ხმელთაშუა ზღვისპირეთის, დასავლეთ აზია აღმოსავლეთ აფრიკის სამიგრაციო მარშრუტები) ასევე ცენტრალურ და აღმოსავლეთ აზიაშიც ბუდობენ (ცენტრალური აზიის სამიგრაციო მარშრუტი)
- მობუდარი გარეული იხვები ჯავახეთიდან არ იყენებენ შავი ზღვისპირეთს გამოსაზამთრებლად
- ფრინველის გრიპის დინამიკა გარეულ ფრინველებში გამოირჩევა ციკლურობით. ციკლის მაქსიმუმებს შორის ისევე, როგორც მინიმუმებს შორის 4 წელია
- ფრინველთა სასიცოცხლო ციკლების ბუდობის, საშემოდგომო მიგრაციის, ზამთრობის და საგაზაფხულო მიგრაციის დაყოფის შედეგად აღმოჩნდა, რომ ბუდობის პერიოდში დასნებოვნების რისკი ყველაზე დაბალია ხოლო შემოდგომის მიგრაციის ყველაზე მაღალი. ზამთრობისას

რისკი შედარებით იკლებს. დასნებოვნების დონე მოზამთრე პოპულაციაში ნარჩუნდება შედარებით მაღალ ნიშნულზე, მოზამთრე ფრინველთა მაღალი სიმჭიდროვის გამო.

- ჯავახეთის ზეგანზე ბუდობის და საგაზაფხულო მიგრაციების დროს პოზიტიური სინჯების წილი დაბალია და საშემოდგომო მიგრაციის დროს მაღალი.
- ჭოროხის დელტაში და მტკვრის დაბლობზე, ბუდობის დროს დასნებოვნების წილი დაბალია ხოლო შემოდგომის მიგრაციიის დაწყებასთან ერთად მნიშვნელოვნად იმატებს, ზამთრობისას ნარჩუნდება დაბალ ნიშნულზე.
- იხვებში და თოლიებში ვირუსის გავრცელება უფრო მეტად ხდება საჭმლის მომნელებელი ტრაქტიდან.
- გარეულ ფრინველებში საქართველოში ჩვენი კვლევის მანძილზე დავაფიქსირეთ 12 HA და 8 NA გრიპის ვირუსის ქვეტიპი. რომლის ძირითადი რეზერვუარებიც მდინარის იხვები და თოლიები არიან.
- საქართველოში თოლიებიდან იზოლირებული H9 და H11 ვირუსები, ქმნიან იხვების შესაბამისი ვირუსებიდან დამოუკიდებელ კლადებს
- საქართველოში გარეული ფრინველებიდან იზოლირებული გრიპის ვირუსის უახლოესი ნათესავები აღმოჩნდა ევრაზიის ყველა ნაწილიდან და სამიგრაციო მარშრუტიდან მოპოვებულ ვირუსებში აღმოსავლეთ ატლანტური, შავი და ხმელთაშუაზღვის, აღმოსავლეთ აფრიკა დასავლეთ აზიის, ცენტრალური აზიის, აღმოსავლეთ აზია ავსტრალიის
- აღმოსავლეთ აზიაიიდან საქართველოში ფრინველის გრიპის ვირუსის მოხვედრაის ალბათობას მიგვანიშნებს როგორც ჩვენს მიერ საქართველოში აღმოჩენილი გრიპის და აღმოსავლეთ აზიაში იზოლირებული ვირუსების ახლო ნათესაობა ასევე ბ ჰაპლოჯგუფის ხალიან ნისკარტა იხვთან ჰიბრიდული გარეული იხვის აღმოჩენა კუმისის ტბაზე. ეს სახეობა მხოლოდ აღმოსავლეთ აზიაში ბუდობს.

ბიბლიოგრაფია

Abuladze A. (1998) Bearded vulture (Gypaetus barbatus) in Caucasia. Holarctic Birds of Prey. WWGBP, London, 1998

Abuladze A., Shergalin J. (1996) Present status of the black vulture in CIS. conference paper.
2nd International Conference on Raptors. Urbino, Italy.

Abuladze A. (2016) On records of Bohemian waxwing (bombicilla garrullus) in Georgia.
Proceedings of the Institute of Zoology, v 25, pp 10-16. Academic press of Georgia

Abuladze A. (1998) the Egyptian Vulture in the former USSR. Book: Holarctic Birds of Pray.
PP 183-195. ADENXE-WWGBP

Abuladze A. (2004) Griffon Vulture at Black Sea. Vulture News. Vol 46. PP.37

Abuladze A. (1995) Seasonal Migration of Demoiselle crane in Georgia. Book: Crane research
and protection in europe. H. Prange (eds). pp. 302-303.

Gavashelishvili A, McGrady MJ. (2007) Radio-Satellite telemetry of a territorial bearded
vulture (Gypaetus barbatus) in the caucasus. Vulture news, 56, march 2007

Gavashelishvili, A., & Javakhishvili, Z. (2010). Combining radio-telemetry and random
observations to model the habitat of Near Threatened Caucasian grouse Tetrao mlokosiewiczi.

Oryx, 44(4), 491-500. doi:10.1017/S0030605310000979

Alexander Gavashelishvili, Michael McGrady, Mamikon Ghasabian & Keith L. Bildstein (2012)
Movements and habitat use by immature Cinereous Vultures (Aegypius monachus) from the
Caucasus, Bird Study, 59:4, 449-462, DOI: 10.1080/00063657.2012.728194

Javakhishvili N. (2017) Study of Movement, ecology and threats of Imperial eagle in Georgia.
MSc thesis. Ilia State University.

Papkiauri A. (2017) Phylogenetic relationship of AIV isolated in Georgia. MSc thesis. Ilia
State University

Fouchier RAM, Munster V, Wallensten A, Besteboer TM, Herfst S, et al. (2005)
Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. Journal of Virology 79: 2814–2822.

Stallknecht DE, Shane SM (1988) Host range of avian influenza virus in freeliving
birds. Vet Res Commun 12: 125–141.

Alexander DJ (2000) A review of avian influenza in different bird species. Veterinary Microbiology 74: 3–13.

Munster VJ, Wallensten A, Baas C, Rimmelzwaan GF, Schutten M, et al. (2005)
Mallards and highly pathogenic avian influenza ancestral viruses, northern Europe. Emerg Infect Dis 11: 1545–1551.

Olsen B, Munster VJ, Wallensten A, Waldenstrom J, Osterhaus AD, et al. (2006)
Global patterns of influenza a virus in wild birds. Science 312: 384–388.

Karamendin K, Kydyrmanov A, Zhumatov K, Asanova S, Ishmukhametova N,
et al. (2011) Phylogenetic analysis of avian influenza viruses of H11 subtype isolated in Kazakhstan. Virus Genes 43: 46–54.

Iamnikova SS, Gambarian AS, Aristova VA, L'Vov DK, Lomakina NF, et al.
(2009) [A/H13 and A/H16 influenza viruses: different lines of one precursors].
Voprosy virusologii 54: 10–18.

Roslaia IG, L'Vov D K, Iamnikova SS (1984) [Incidence of influenza virus infection in black-headed gulls]. Voprosy virusologii 29: 155–157.

Podcherniaeva R, Miasnikova IA, Blinova VK, Belousova RV, Andreev VP (1979) [Properties of the influenza viruses isolated in 1976 from gulls in Astrakhan Province]. Voprosy virusologii: 227–232.

Krauss S, Stallknecht DE, Negovetich NJ, Niles LJ, Webby RJ, et al. (2010) Coincident ruddy turnstone migration and horseshoe crab spawning creates an
ecological 'hot spot' for influenza viruses. Proceedings Biological sciences/The
Royal Society 277: 3373–3379.

Munster VJ, Baas C, Lexmond P, Waldenstrom J, Wallensten A, et al. (2007)
Spatial, temporal, and species variation in prevalence of influenza A viruses in
wild migratory birds. PLoS Pathog 3: e61.

Velarde R, Calvin SE, Ojkic D, Barker IK, Nagy E (2010) Avian influenza virus
H13 circulating in ring-billed gulls (Larus delawarensis) in southern Ontario,
Canada. Avian diseases 54: 411–419.

Chambers TM, Yamnikova S, Kawaoka Y, Lvov DK, Webster RG (1989) Antigenic and molecular characterization of subtype H13 hemagglutinin of influenza virus. Virology 172: 180–188.

Hanson BA, Luttrell MP, Goekjian VH, Niles L, Swayne DE, et al. (2008) Is the
occurrence of avian influenza virus in Charadriiformes species and location dependent? J Wildl Dis 44: 351–361.

Jackwood MW, Stallknecht DE (2007) Molecular epidemiologic studies on North American H9 avian influenza virus isolates from waterfowl and shorebirds. Avian diseases 51: 448–450.

Beruchashvili N. (2000) Diversity of Georgia's Landscapes and Geographical
Analysis of Landscape Diversity of the World. In: Beruchashvili N, Kushlin A,
Zazanashvili N, editors. Proceedings of the first national conference on Biological and Landscape Diversity of Georgia. WWF Georgia Country Office
pp 221–250.

Ramsar (2013) The Ramsar List of Wetlands of International Importance.Avail-
Available: http://www.ramsar.org/pdf/sitelist.pdf Accessed 10 February 2013

Spackman E, Senne DA, Myers TJ, Bulaga LL, Garber LP, et al. (2002) Development of a real-time reverse transcriptase PCR assay for type A influenza virus and the avian H5 and H7 hemagglutinin subtypes. Journal of clinical microbiology 40: 3256–3260.

Squires RB NJ, Hunt V, Garcı´a-Sastre A, Macken C, Baumgarth N, et al. (2012) Influenza research database: an integrated bioinformatics resource for influenza research and surveillance. Influenza and Other Respiratory Viruses.

Swofford DL (2003) PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods) 4.0 ed. Sunderland (Massachusetts): Sinauer Associates.

Posada D, Crandall KA (1998) MODELTEST: Testing the model of DNA substitution. Bioinformatics 14: 817–818.

Jourdain E, van Riel D, Munster VJ, Kuiken T, Waldenstrom J, et al. (2011) The pattern of influenza virus attachment varies among wild bird species. PLoS ONE 6: e24155.

Bahl, J., Nelson, M. I., Chan, K. H., Chen, R., Vijaykrishna, D., Halpin, R. A., Stockwell, T. B., Lin, X., Wentworth, D. E. & other authors (2011). Temporally structured metapopulation dynamics and persistence of influenza A H3N2 virus in humans. Proc Natl Acad Sci U S A 108, 19359–19364.

Bahl, J., Krauss, S., Ku¨ hnert, D., Fourment, M., Raven, G., Pryor, S. P., Niles, L. J., Danner, A., Walker, D. & other authors (2013). Influenza A virus migration and persistence in North American wild birds. PLoS Pathog 9, e1003570.

Bielejec, F., Rambaut, A., Suchard, M. A. & Lemey, P. (2011). SPREAD: spatial phylogenetic reconstruction of evolutionary dynamics. Bioinformatics 27, 2910–2912.

Chen, R. & Holmes, E. C. (2009). Frequent inter-species transmission and geographic subdivision in avian influenza viruses from wild birds. Virology 383, 156–161.

Chen, R. & Holmes, E. C. (2010). Hitchhiking and the population genetic structure of avian influenza virus. J Mol Evol 70, 98–105.

Djikeng, A., Halpin, R., Kuzmickas, R., Depasse, J., Feldblyum, J., Sengamalay, N., Afonso, C., Zhang, X., Anderson, N. G. & other authors (2008). Viral genome sequencing by random priming methods. BMC Genomics 9, 5.

Djikeng, A., Kuzmickas, R., Anderson, N. G. & Spiro, D. J. (2009). Metagenomic analysis of RNA viruses in a fresh water lake. PLoS One 4, e7264.

Drummond, A. J. & Rambaut, A. (2007). beast: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evol Biol 7, 214.

Drummond, A., Pybus, O. G. & Rambaut, A. (2003). Inference of viral evolutionary rates from molecular sequences. Adv Parasitol 54, 331–358.

Drummond, A. J., Rambaut, A., Shapiro, B. & Pybus, O. G. (2005). Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. Mol Biol Evol 22, 1185–1192.

Drummond, A. J., Ho, S. Y., Phillips, M. J. & Rambaut, A. (2006). Relaxed phylogenetics and dating with confidence. PLoS Biol 4, e88.

Dugan, V. G., Chen, R., Spiro, D. J., Sengamalay, N., Zaborsky, J., Ghedin, E., Nolting, J., Swayne, D. E., Runstadler, J. A. & other authors (2008). The evolutionary genetics and emergence of avian influenza viruses in wild birds. PLoS Pathog 4, e1000076.

Fouchier, R. A. & Munster, V. J. (2009). Epidemiology of low pathogenic avian influenza viruses in wild birds. Rev Sci Tech 28, 49–58.

Guindon, S. & Gascuel, O. (2003). A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Syst Biol 52, 696–704.

Hill, N. J., Takekawa, J. Y., Ackerman, J. T., Hobson, K. A., Herring, G., Cardona, C. J., Runstadler, J. A. & Boyce, W. M. (2012). Migration strategy affects avian influenza dynamics in mallards (Anas platyrhynchos). Mol Ecol 21, 5986–5999.

Hinshaw, V. S., Air, G. M., Gibbs, A. J., Graves, L., Prescott, B. & Karunakaran, D. (1982). Antigenic and genetic characterization of a novel hemagglutinin subtype of influenza A viruses from gulls. J Virol 42, 865–872.

Hoyo, J. D., Elliott, A. & Sargatal, J. (2011). Handbook of the Birds of the World. Barcelona: Lynx Edicions.

Jehl, J. R. Jr (1990). Aspects of the molt migration. In Bird Migration, pp. 102–113. Edited by E. Gwinner. Berlin: Springer.

Krauss, S., Walker, D., Pryor, S. P., Niles, L., Chenghong, L., Hinshaw, V. S., Webster, R. G. & Influenza, A. (2004). Influenza A viruses of migrating wild aquatic birds in North America. Vector Borne Zoonotic Dis 4, 177–189.

Latorre-Margalef, N., Grosbois, V., Wahlgren, J., Munster, V. J., Tolf, C., Fouchier, R. A., Osterhaus, A. D., Olsen, B. & Waldenstro¨ m, J. (2013). Heterosubtypic immunity to influenza A virus infections in mallards may explain existence of multiple virus subtypes. PLoS Pathog 9, e1003443.

Latorre-Margalef, N., Tolf, C., Grosbois, V., Avril, A., Bengtsson, D., Wille, M., Osterhaus, A. D., Fouchier, R. A., Olsen, B. & Waldenstro¨ m, J. (2014). Long-term variation in influenza A virus prevalence and subtype diversity in migratory mallards in northern Europe. Proc Biol Sci 281, 20140098.

Lemey, P., Rambaut, A., Drummond, A. J. & Suchard, M. A. (2009). Bayesian phylogeography finds its roots. PLoS Comput Biol 5, e1000520.
Lewis, N. S., Javakhishvili, Z., Russell, C. A., Machablishvili, A., Lexmond, P., Verhagen, J. H., Vuong, O., Onashvili, T., Donduashvili, M. & other authors (2013). Avian influenza virus surveillance in wild birds in Georgia: 2009–2011. PLoS One 8, e58534.

Lu, L., Lycett, S. J. & Leigh Brown, A. J. (2014). Reassortment patterns of avian influenza virus internal segments among different subtypes. BMC Evol Biol 14, 16.

Munir, M., Zohari, S., Metreveli, G., Baule, C., Bela´ k, S. & Berg, M. (2011). Alleles A and B of non-structural protein 1 of avian influenza A viruses differentially inhibit beta interferon production in human and mink lung cells. J Gen Virol 92, 2111–2121.

Newman, S. H., Hill, N. J., Spragens, K. A., Janies, D., Voronkin, I. O., Prosser, D. J., Yan, B., Lei, F., Batbayar, N. & other authors (2012). Eco-virological approach for assessing the role of wild birds in the spread of avian influenza H5N1 along the Central Asian Flyway. PLoS One 7, e30636.

Obenauer, J. C., Denson, J., Mehta, P. K., Su, X., Mukatira, S., Finkelstein, D. B., Xu, X., Wang, J., Ma, J. & other authors (2006). Large-scale sequence analysis of avian influenza isolates. Science 311, 1576–1580.

Olson, S. H., Parmley, J., Soos, C., Gilbert, M., Latorre-Margalef, N., Hall, J. S., Hansbro, P. M., Leighton, F., Munster, V. & Joly, D. (2014). Sampling strategies and biodiversity of influenza A subtypes in wild birds. PLoS One 9, e90826.

Parker, J., Rambaut, A. & Pybus, O. G. (2008). Correlating viral phenotypes with phylogeny: accounting for phylogenetic uncertainty. Infect Genet Evol 8, 239–246.

Roche, B., Drake, J. M., Brown, J., Stallknecht, D. E., Bedford, T. & Rohani, P. (2014). Adaptive evolution and environmental durability jointly structure phylodynamic patterns in avian influenza viruses. PLoS Biol 12, e1001931.

Takekawa, J. Y., Newman, S. H., Xiao, X., Prosser, D. J., Spragens, K. A., Palm, E. C., Yan, B., Li, T., Lei, F. & other authors (2010). Migration of waterfowl in the East Asian flyway and spatial relationship to HPAI H5N1 outbreaks. Avian Dis 54, 466–476.

Takekawa, J. Y., Prosser, D. J., Collins, B. M., Douglas, D. C., Perry, W. M., Yan, B., Ze, L., Hou, Y., Lei, F. & other authors (2013). Movements of wild ruddy shelducks in the Central Asian Flyway and their spatial relationship to outbreaks of highly pathogenic avian influenza H5N1. Viruses 5, 2129–2152.

van de Kam, J., de Goeij, P. & Moore, S. J. (2004). Shorebirds: An Illustrated Behavioural Ecology. Zeist: KNNV.

van der Vries, E., Stittelaar, K. J., Amerongen,G., Veldhuis Kroeze, E. J.,

deWaal, L., Fraaij, P. L.,Meesters, R. J., Luider, T. M., van derNagel,B.& other authors (2013). Prolonged influenza virus shedding and emergence of antiviral resistance in immunocompromised patients and ferrets. PLoS Pathog 9, e1003343.

van Dijk, J. G., Verhagen, J. H., Nolet, B. A., Fouchier, R. A. & Klaassen, M. (2014). Juveniles and migrants as drivers for seasonal epizootics of avian influenza virus. J Anim Ecol 83, 266–275.

Vijaykrishna, D., Deng, Y. M., Su, Y. C., Fourment, M., Iannello, P., Arzey, G. G., Hansbro, P. M., Arzey, K. E., Kirkland, P. D. & other authors (2013). The recent establishment of North American H10 lineage influenza viruses in Australian wild waterfowl and the evolution of Australian avian influenza viruses. J Virol 87, 10182–10189.

Webster, R. G., Bean, W. J., Gorman, O. T., Chambers, T. M. & Kawaoka, Y. (1992). Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol Rev 56, 152–179.

Worobey, M., Han, G. Z. & Rambaut, A. (2014). A synchronized global sweep of the internal genes of modern avian influenza virus. Nature 508, 254–257.

Zhou, B. & Wentworth, D. E. (2012). Influenza A virus molecular virology techniques. Methods Mol Biol 865, 175–192.

Zhou, B., Donnelly, M. E., Scholes, D. T., St George, K., Hatta, M., Kawaoka, Y. & Wentworth, D. E. (2009). Single-reaction genomic amplification accelerates sequencing and vaccine production for classical and swine origin human influenza A viruses. J Virol 83, 10309–10313.

Zwickl, D. J. (2006). Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum

likelihood criterion. Thesis, The University of Texas at Austin, Austin, TX, USA.

Berthold, P. 2001. Bird Migration: A General Survey, 2nd edn. Oxford: Oxford University Press.

Berthold, P., Kaatz, M. & Querner, U. 2004. Long-term satellite tracking of White Stork (Ciconia ciconia) migration: constancy versus variability. J. Ornithol. 145: 356–359.

Helms, C.W. 1963. The annual cycle and Zugunruhe in birds. Proc Int. Orn. Cong. 13: 925–939.

Newton, I. 2008. The Ecology of Bird Migration. London: Academic Press.