ავტორის სტილი დაცულია

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

ზუსტ და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა ფაკულტეტი

სადოქტორო პროგრამა: **ბიოლოგია**

მარიამ ტარასაშვილი

სადისერტაციო ნაშრომი თემაზე:

”მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია საქართველოს ექსტრემალურ ეკოსისტემებში მოპოვებული ავტოტროფული მიკროორგანიზმების გამოყენებით”

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი, პროფესორი: **ნუგზარ ალექსიძე**

თბილისი 2019

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University

Faculty of Exact and Natural Sciences

Doctoral Program: **Biology**

Mariam Tarasashvili

Dissertation Thesis:

"Bioremediation of Artificial Martian Ground with Autotrophic Microorganisms from the Extreme Ecosystems of Georgia"

Scientific Supervisor:

Doctor of Biological Sciences, Professor: **Nugzar Aleksidze**

Tbilisi 2019

შ ი ნ ა ა რ ს ი

შესავალი _____ **2**

კვლევის აქტუალობა ---------- 2

კვლევის მიზნები და ამოცანები ---------- 7

გამოყენებული ხელსაწყოების ჩამონათვალი ---------- 8

გამოყენებული კომპიუტერული პროგრამების ჩამონათვალი ---------- 9

მეთოდების ჩამონათვალი ----------9

საკვლევი მასალა ---------- 10

ნაწილი I. ლიტერატურის მიმოხილვა _____**11**

თავი 1. პირველი იდეები და ექსპერიმენტები მთვარისა და მარსის ათვისებასა და კოლონიზაციაზე ---------- 11

თავი 2. ასტრობიოლოგია, კოსმოსური ბიოლოგია და მედიცინა ---------- 13

თავი 3. მარსის გარემო პირობების იმიტაცია ასტრობიოლოგიური კვლევებისათვის ---------- 15

თავი 4. მარსის გრუნტის გეოქიმიური შედგენილობა ---------- 17

ნაწილი II. საკვლევი მასალა და მეთოდები _____ **19**

თავი 5. ექსპერიმენტული კლიმატური კამერა ”ხელოვნური მარსი” ---------- 19

თავი 6. მარსის გარემოს ფიზიკური პარამეტრების უზრუნველყოფა---------- 20

თავი 7. მარსის იმიტირებულ გრუნტში მიკროორგანიზმების განთესვის სპეციფიკური მეთოდები ---------- 22

თავი 8. მარსის გრუნტში მიკრობების გადარჩენისა და ზრდის დინამიკის განსაზღვრა ---------- 23

თავი 9. უჯრედების თვლის ვინოგრადსკი–ბრიდის მოდიფიცირებული მეთოდი ჰემატოციტომეტრის გამოყენებით ---------- 26

თავი 10. მიკროორგანიზმთა იდენტიფიკაცია კვების ტიპის მიხედვით და მათი აქტიურობის შესწავლა სილიკაგელის ავტოტროფულ საკვებ ნიადაგზე --------26

თავი 11. მარსის იმიტირებულ გრუნტში მიკროორგანიზმების ზრდის განსაზღვრა ---------- 31

თავი 12. მარსის იმიტირებული გრუნტის ბიორემედიაცია – მარსის გარდაქმნილ გრუნტში ბაქტერიული მეტაბოლიზმის პროდუქტების და გარდაქმნილი ქიმიური კომპონენტების შემცველობის განსაზღვრა ---------- 37

თავი 13. აზოტფიქსატორი ბაქტერიების მიერ ავტოტროფულ საკვებ არეში ნიტრატების დაგროვების განსაზღვრა ნესლერის და სპექტროფოტომეტრული მეთოდით ---------- 39

თავი 14. ნაშრომის არსებული პროტოტიპები და ექსპერიმენტული ნორმები, შედეგების საიმედოობა ---------- 40

ნაწილი III. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა _____ 45

თავი 15. პლანეტა მარსზე არსებული გარემოს ფიზიკური პარამეტრების იმიტაცია ---------- 45

თავი 16. მარსის ხელოვნური გრუნტი, როგორც ბუნებრივის ანალოგი --------- 49

თავი 17. საქართველოს ექსტრემალური ეკოსისტემებიდან მოპოვებული მიკროორგანიზმების ადაპტაცია "ხელოვნურ მარსზე" არსებული გარემო პირობებისადმი და მათი ბიოქიმიური აქტიურობა ---------- 54

თავი 18. მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია ციანობაქტერიების მიერ ---------- 57

თავი 19. მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია რკინა-ბაქტერიების მიერ ---------- 62

თავი 20. მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია გოგირდ-ბაქტერიების მიერ ---------- 68

თავი 21. მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია მეთან-ბაქტერიების მიერ ---------- 71

თავი 22. ექსტრემოფილი მიკროორგანიზმების შეგუება მარსის გრუნტში არსებული პერქლორატების შემცველობისადმი ---------- 73

თავი 23. საქართველოს ექსტრემალური ეკოსისტემებიდან მოპოვებული მიკროორგანიზმების მიერ მარსის ბიორემედირებული ხელოვნური გრუნტის აგროკულტურული პოტენციალი და მიკროორგანიზმების ზრდის საშუალო სტატისტიკა ხელოვნური მარსის პირობებში ---------- 77

დასკვნები _____ 83

გამოყენებული ლიტერატურა _____ 84

დანართები _____ 91

შესავალი

კვლევის აქტუალობა. ბიოლოგიაში განვითარდა მთელი რიგი ახალი მიმართულებები, რომელთა ნაწილი შეისწავლის ცოცხალ ორგანიზმებზე კოსმოსური ექსტრემალური ფაქტორების გავლენას, როგორც პლანეტებზე, ასევე - ხელოვნურ გარემოში (საერთაშორისო კოსმოსური სადგური). ამ აბიოტური ფაქტორების ზემოქმედების შესწავლა შესაძლებელია ბიოქიმიური, ბიოფიზიკური, მიკრობიოლოგიური და ეკოლოგიური კვლევის თანამედროვე მეთოდებით.

ასტრობიოლოგების განსაკუთრებული ინტერესი წითელი პლანეტა მარსის მიმართ ორი ძირითადი პრობლემითაა განპირობებული: მარსი შესაძლებელია გახდეს ,,ცოცხალი პლანეტის" ფორმირებისა და ბიორემედიაციის კლასიკური მოდელი. თეორიული მოსაზრებებიდან გამომდინარე, მარსის ათვისების პროგრამის ფარგლებში, პლანეტის ბიორემედიაცია მარსის გრუნტის ბიოლოგიური გარდაქმნით დაიწყება, რასაც მოჰყვება ცოცხალი ორგანიზმებით ატმოსფეროს და ეკოსისტემის ფორმირება.

ბუნებრივია დაისვას კითხვა, თუ რა ფორმით ჩამოყალიბდება სიცოცხლე მარსზე. ცნობილია, დედამიწაზე პირველი ცოცხალი ორგანიზმები იყო ბაქტერიები, რომელთა ბიოქიმიურ აქტიურობასაც, 1.9 მილიარდი წლის განმავლობაში, ევოლუციის შედეგად, მოჰყვა დედამიწის გრუნტისა და კოსმოსური სივრცის ბიოტრანსფორმაცია. ამასთან დაკავშირებით, ასტრობიოლოგიის თვალსაზრისით, უაღრესად საინტერესოა ექსტრემოფილების ბიოლოგია. შესასწავლია, თუ რამდენად გამძლე აღმოჩნდებიან ბაქტერიები, მიკროორგანიზმები და უმაღლესი მცენარეები წყლის დეფიციტის, მკვეთრი ტემპერატურული ცვალებადობებისა და რადიაციის პირობებში. უახლესი მონაცემებით, სიცოცხლე გამოვლენილ იქნა ისეთ ექსტრემალურ პირობებშიც, როცა გარემოში აღინიშნება წყალბადიონთა კონცენტრაციის დიდი მერყეობა და მინიმალური რაოდენობითაა ჟანგბადი. გასათვალისწინებელია ისიც, რომ მრავალი ბაქტერია, გარდა წყალბადისა, "საკვებად" იყენებს ისეთ ნივთიერებებს, როგორიცაა გოგირდწყალბადი,

მეთანი, ნახშირჟანგი, აზოტი, ქანები და სხვა, რომელთა თანაობა მრავალ პლანეტაზე იქნა გამოვლენილი. ამასთან ერთად, მხედველობაში უნდა მივიღოთ ისიც, რომ მიკროორგანიზმები განსაკუთრებულ შემგუებლობას იჩენენ ისეთი ექსტრემალური ფაქტორების მიმართაც, როგორიცაა ულტრაიისფერი სხივები და მაიონებელი რადიაცია.

დიდ ინტერესს იწვევს ექსტრემალური აბიოტური ფაქტორების ფონზე ცოცხალი ორგანიზმების ადაპტაციური მექანიზმების რეალიზაციის შესაძლებლობები. დადგენილია, რომ გარემოში წნევის გაზრდის პირობებში მნიშვნელოვნად მცირდება მაღალი ტემპერატურისადმი მგრძნობელობა. წყლის დეფიციტის პირობებში აღზრდილი მცენარე ადვილად ეგუება გარე ზემოქმედ ფაქტორებს. გარკვეულ პირობებში შესაძლებელია გამოვლინდეს სინერგიზმი ან ანტაგონიზმი, რაც ექსპერიმენტულად იქნა დადასტურებული კლიმატურ სადგურებში აბიოგენური ფაქტორების მიმართ ორგანიზმების აკლიმატიზაციისას. საყურადღებო შედეგები იქნა მიღებული აგრეთვე ჩვენს მოდელში, ”ხელოვნური მარსი”, სადაც სიმულირებული იქნა მარსზე არსებული აბიოგენური პირობები.

კოსმოსში არსებული მრავალი ექსტრემალური ფაქტორიდან, კოსმობიოლოგიისათვის, ბიორეგულაციის თვალსაზრისით, დიდ ინტერესს იწვევს ტემპერატურა, წყალი, ნიადაგისა და კოსმოსური შიდა სივრცის ქიმიური შედგენილობა, მაიონებელი და ულტრაიისფერი რადიაცია და ვაკუუმი. ამგვარად, სავარაუდოა, რომ მიკროორგანიზმებით დასახლებული ბიოსფეროს საზღვრების ტერმინალური უბნები უნდა მონაწილეობდნენ ნივთიერებათა წრებრუნვაში, ნიადაგის წარმოქმნასა და ბიოსფეროს ფორმირებაში, რაც ალბათ პლანეტებზე სიცოცხლის ფორმირების კლასიკურ მოდელად უნდა მივიჩნიოთ.

კოსმოსის ათვისებასთან ერთად, აქტუალურია სხვა პლანეტებზე ადამიანთა სავარაუდო დასახლების საკითხიც. ორგანიზმთა ბიოქიმიური ადაპტაციების მექანიზმის კვლევის შედეგად შესაძლებელი გახდება იმგვარი გენმოდიფიცირებული ახალი ორგანიზმების ფორმირება, რომელთა მეშვეობით კოსმოსური ხომალდებს, მთვარისა და მარსის კოლონიებს უზრუნველვყოფთ

ჟანგბადით, კვების პროდუქტებით, სამკურნალო საშუალებებით და სამშენებლო მასალით; მომავალში კი შესაძლებელი გახდება კოსმოსური სხეულების ტერაფორმირება ან ეკოპოესი.

მარსის ატმოსფეროს და გრუნტის ბიორემედიაციის მიზნით, დისერტაციის ფარგლებში შემუშავებული ალტერნატიული სამეცნიერო მეთოდები და მიღებული შედეგები წარმატებით შეიძლება იყოს გამოყენებული ისეთი ურთულესი ეკოლოგიური პრობლემების გადაჭრისათვის, როგორიცაა დაბინძურებული გრუნტის, ატმოსფეროსა და წყლების გასუფთავება მძიმე მეტალებისგან, ორგანული პათოგენებისგან და კანცეროგენული გამონაბოლქვებისგან; კლიმატის გლობალური ცვლილების შემთხვევაში – ექსტრემალური პირობებისადმი შეგუებული გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების გამოსაყვანად და სხვა.

ევროპის, აშშ-ის და აზიის ზოგიერთი ქვეყნის სამეცნიერო ფონდები ინტენსიურად აფინანსებენ კოსმოსურ კვლევებს, რომლებიც პრიორიტეტული კოსმოსური სხეულების – მთვარისა და მარსის – ათვისებაში დაგვეხმარება. მოდელირებულ კოსმოსურ გარემოში, ექსტრემალური ბიოგეოქიმიური პროცესების შესწავლამ შესაძლოა მნიშვნელოვნად გაზარდოს მეცნიერთა გამოცდილება და ჩვენი საკუთარი პლანეტის ბიოსფეროს მდგომარეობის გაუმჯობესების შანსებიც.

<u>კვლევის მიზნები და ამოცანები.</u> დისერტაციის მიზანი იყო პლანეტა მარსის სიმულაციური გრუნტის ბიორემედიაციის შესაძლებლობის კვლევა და, ბიოლოგიური მეთოდების გამოყენებით, პლანეტის კოლონიზაციისა და ტერაფორმირების პოტენციალის განსაზღვრა.

ამ მიზნით განხორციელდა შემდეგი ამოცანები:

1. სამეცნიერო ლიტერატურაზე დაყრდნობით, შეიქმნა მარსის სიმულაციური გრუნტი;

2. პლანეტა მარსზე არსებული აბიოტური ფაქტორების იმიტაციის მიზნით შეიქმნა კამერა ”ხელოვნური მარსი”;

3. საქართველოს ექსტრემალური ეკო-სისტემებიდან მოპოვებული იქნა ავტოტროფული მიკროორგანიზმები, რომლებიც განთესილი იქნა მარსის სიმულაციურ გრუნტში და განთავსდა ”ხელოვნურ მარსზე”;

4. შესწავლილი იქნა პლანეტა მარსის იმიტირებულ პირობებში ექსტრემალურ მიკროორგანიზმთა გამძლეობა და მეტაბოლიზმის თავისებურებები;

5. შესწავლილი იქნა მარსის ხელოვნური გრუნტის ქიმიური შედგენილობის ცვლილება მიკროორგანიზმებით ბიორემედიაციის შემდეგ;

6. შესწავლილი იქნა საქართველოს ექსტრემალური მიკოორგანიზმების მიერ მარსის სიმულაციურ ბიორემედირებულ გრუნტში მცენარეთა ზრდის შესაძლებლობა.

<u>გამოყენებული ხელსაწყოების ჩამონათვალი:</u>

1. კამერა “ხელოვნური მარსი” – 10 მ^3 (GEO PAT 12 522/01);

2. ნათურები: DRT-400 და DRE-400;

3. ლუქსმეტრი: “Ю–116”; “Вибратор”, СССР, 1984;

4. სელენოფოტოექსპონომეტრი: "Ленинград-4", “Вибратор”, СССР, 1968;

5. არეკვლითი სპექტროფოტომეტრიის ფოტოკამერა: “HySpex VNIR-1024”. აშშ;

6. FT-IR სპექტროფოტომეტრი: Jasco FT/IR-4200, გერმანია;

7. მიკროსკოპი: Levenhuk 850B, 1982, პოლონეთი;

8. ჰემატოციტომეტრი: Hornik CE IVD 98/79, ბრიტანეთი;

9. ციფრული კამერა: Cannon PowerShot SX 10 IS;

10. მაკრო–გადაღების ციფრული კამერა: Canon IXUS 750 IS;

11. სპექტროფოტომეტრი: Spectronic 20, 333172; Milton Roy Comp. აშშ;

12. პოტენციომეტრი: HI2002-01; edge® *pH*/ORP Meter, აშშ;

13. ანალიზური სასწორი: RADWAG AS.R 2 x RS 232, type A USB, აშშ;

14. CO_2 ვაკუუმ–კამერა: Fisher Scientific ISOTEMP Kendro Model FFC0300RSSABB, აშშ;

15. CO_2 ვაკუუმ–კამერა: ThermoScientific CO_2 vacuum-chamber HERACELL VIOS, აშშ.

გამოყენებული კომპიუტერული პროგრამების ჩამონათვალი:

1. “Hyperspectral Imaging” – Optronics HyperSpectral, ფინეთი;

2. “Origin – 6.5; და 8, OriginLab Corp. SciDAVis, აშშ;

3. “Cell culture - Open CFU” PLOS Scientific inc. აშშ;

4. “MS Excel 2007–2010”, Windows;

4. უჯრედების მთვლელი: “Image J – cell counter 2007-2012”; RSB-NIH inc. აშშ;

5. სტატ–პროგრამა: “StatWiz 2008”; Berkeley, აშშ;

6. მიკრობული პოპულაზიების ზრდის მთვლელი: “GrowthCurves”; ZappyLab inc. აშშ.

მეთოდების მოკლე ჩამონათვალი:

1. უჯრედების მიკროსკოპული თვლა, ვინოგრადსკი–ბრიდი [39, 40];;

2. სერიული განზავება [41, 42];

3, მიკროტიტრაცია [43, 44, 45, 46, 47, 48];

4. მაკ–ფარლანდი [49];

5. სპექტროსკოპული ნეფელომეტრია [42, 51, 52];

6. მიკრობების ზრდის სტატისტიკური განსაზღვრა, სტიუდენტი [53];

7. მიკრობების ზრდის სტატისტიკური განსაზღვრა, სვინენ–როდრიგესი [54];

8. რაოდენობრივი ანალიზი იონ-სპეციფიკური რეაქციების გამოყენებით [43. 44; 45];

9. გრუნტში ნიტრატების და ფოსფატების დაგროვების ანალიზი: Vernier-ის სელექტური ელექტროდები: [46].

10. კოხის განთესვის მეთოდი [56];

11. რკინაბაქტერიების იდენტიფიკაციის მეთოდი [51];

12. სილიკობაქტერიების იდენტიფიკაციის მეთოდი [50];

13. ნიტრიფიკაციის ბაქტერიების იდენტიფიკაციის მეთოდი (ნესლერი) [55];

14. გოგირდბაქტერიების იდენტიფიკაციის მეთოდი [55–56];

15. მეთანობაქტერიების იდენტიფიკაციის მეთოდი [55–56];

16. კვების ტიპის მიხედვით ავტოტროფული ბაქტერიების იდენტიფიკაციის სპექტროფოტომეტრული მეთოდი [54];

17. გარემოს საკონტროლო მოდულაციის სიმულაციის სტატისტიკური მეთოდი ვან–იმპე, [54];

18. მიკრობული ზრდის ინტენსივობის დამოკიდებულება ორ ცვალებად პარამეტრზე – კვადრატული (რატკოვსკის) სტატისტიკური მეთოდი [61];

19. Lag ფაზის ხანგრძლივობის განისაზღვრისა და პოპულაციის გაორმაგების სტატისტიკური მეთოდი (ბუჩანან–სოლბერგი) [63];

20. მიკრობების ზრდის აქსელერაციის გამოთვლის მეთოდი (სვინენ–როდრიგესი) [72];

21. მარსის ხელოვნური გრუნტის რაოდენობრივი ანალიზი თვისებითი ანუ იონ-სპეციფიკური რეაქციების გამოყენებით [43. 44];

22. ტიტრირება, ნიმუშში ნივთიერების კონცენტრაციის განსაზღვრის მეთოდი [45]:

23. შაქრების, ცხიმების და ცილების შემცველობის შემოწმების ბიოქიმიური მეთოდი [47. 48];

<u>საკვლევი მასალა:</u>

1. ზამთრის ფეროსილიკატური გრუნტისა და წყლის ნიმუშები სხვადასხვა ლოკაციიდან და სიღრმიდან; მტირალას მთა, თბილისი;

2. ცხელი რკინა–გოგირდოვანი წყაროს ნიმუშები სხვადასხვა ლოკაციიდან და სიღრმიდან, ბახმარო;

3. ცივი რკინა–გოგირდოვანი წყაროს ნიმუშები სხვადასხვა ლოკაციიდან და სიღრმიდან, ბორჯომი;

4. ფეროსილიკატური რკინა–ბაქტერიული გრუნტი; ნიმუშები სხვადასხვა ლოკაციიდან და სიღრმიდან, გერგეთი;

5. მლაშე ტბა - საგარეჯო;

6. საკვები არეები ავტოტროფებისთვის [43, 44].

ნაწილი I. ლიტერატურის მიმოხილვა

თავი 1. პირველი იდეები და ექსპერიმენტები მთვარისა და მარსის ათვისებასა და კოლონიზაციაზე

კოსმოსის კოლონიზაციის იდეა ჯერ კიდევ ჯორდანო ბრუნოს და გალილეო გალილეის შრომებშია ასახული, თუმცა ამ იდეების სამეცნიერო–ტექნოლოგიური საშუალებებით უზრუნველყოფილი ექსპერიმენტული ნაშრომები მხოლოდ მე–19–20 საუკუნის მიჯნაზე იქნა შემოთავაზებული. ამ ნაშრომებში ცენტრალური ადგილი ეჭირა დედამიწის ახლოს მყოფი კოსმოსური სხეულების ათვისებას, როგორებიცაა მთვარე და მარსი. ჯერ კიდევ გასული საუკუნის 10–20–იან წლებში საბჭოთა მეცნიერი კონსტანტინ ციოლკოვსკი, ამერიკელი მეცნიერი რობერტ გოდარდი და სხვები მიუთითებდნენ მთვარისა და მარსის კოლონიზაციის აუცილებლობაზე [1, 2, 3].

მეორე მსოფლიო ომის დროს მნიშვნელოვანი პროგრესი განიცადა სარაკეტო სისტემების ინჟინერიამ; მთვარეზე და მარსზე გაფრენის სამეცნიერო დონეზე შემუშავებული პროგრამა ჯერ კიდევ 1948 წელს არსებობდა, რომლის ავტორი იყო გერმანელი ინჟინერი ვერნერ ფონ ბრაუნი [4]. ამერიკის შეერთებულ შტატებში მიგრაციის შემდეგ, 1952 წელს, მან გამოსცა პირველი სამეცნიერო ნაშრომი “პროექტი მარსი”, რომელშიც დეტალურად იყო ასახული როგორც დედამიწაზე განსახორციელებელი ექსპერიმენტული პროექტები, სახელდობრ: 1. მარსის სიმულაციური ბაზის დაარსება ანტარქტიდაზე, 2. ახალი ტიპის უდანაკარგო ძრავების ინჟინერია, 3. ჟანგბადის განახლების, საკვების მოყვანისა და რადიაციისაგან დაცვის უახლესი ტექნოლოგიები, ასევე – მრავალსაფეხურიანი და მრავალხომალდიანი მისიების შესრულებისათვის აუცილებელი საინჟინრო–ტექნიკური დეტალები [5; 6]. ამ საინჟინრო–ტექნოლოგიური პროექტების უმეტესობა დღეს უკვე განხორციელებულია.

1969 წლის 24 ივლისს მთვარეზე “აპოლო 11”–ისა და 5 სხვა მისიის წარმატებით განხორციელებამ ფონ–ბრაუნისა და მისი სამეცნიერო ჯგუფის საინჟინრო მიღწევებისა და გათვლების სისწორე დაადასტურა და, რაც მთავარია, დაგროვდა პრაქტიკული გამოცდილება, რაც აისახა ფონ–ბრაუნის

1969 წელს დაწერილ მონოგრაფიაში “მარსის ექსპედიცია – 1969” [7], სადაც აღწერილი იყო მრავალჯერადი გამოყენების ხომალდებისა და თერმობირთვული ძრავებით აღჭურვილი სარაკეტო სისტემების გამოყენების აუცილებლობა და გათვალისწინებული იყო უახლესი მონაცემები მარსის გრუნტისა და ატმოსფეროს შესახებ.

საბჭოთა კავშირში მთვარისა და მარსის ათვისების კოსმოსურ პროგრამებს უძღვებოდა სამეცნიერო ჯგუფი (ОКБ-1) პროფესორ სერგეი კოროლიოვის ხელმძღვანელობით. სწორედ ამ ჯგუფის მოღვაწეობის შედეგად მოხდა მთვარეზე პირველი “მთვარემავალის” დასმა, ხოლო “მარს–3” პირველი აპარატი იყო, რომელმაც მარსის ზედაპირამდე მიაღწია.

კოსმოსში პირველი ასტრონავტების გაგზავნის შემდეგ დაიწყო ე.წ. “რბოლა მთვარისათვის”. სწორედ ამ პერიოდში შეიქმნა მსოფლიოში დღემდე უძლიერესი შიდა წვის სარაკეტო ძრავი NK–33 (14D15) რომელიც განკუთვნილი იყო რუსული მთვარის რაკეტისათვის N–1. რაკეტის ყველა აფრენა აფეთქებით დასრულდა, ხოლო ამერიკის მთვარის პროგრამის გამარჯვების შემდეგ საბჭოთა მთავრობამ მთვარის პროგრამა არარენტაბელურად მიიჩნია და დახურა. მიუხედავად ამისა, კოროლიოვს, როგორც პროგრესულ მეცნიერს, გარდაცვალებამდე არ შეუწყვეტია კვლევების ჩატარება მარსზე საკაცობრიო მისიის განხორციელებისათვის. კერძოდ, 1967 წელს დეტალურად იქნა გამოკვლეული 366–დღიანი კოსმოსური მისიის დროს 3 ასტრონავტისათვის სიცოცხლისა და ჯანმრთელობის უზრუნველყოფის საჭირო საკითხები. მთვარის პროგრამის ფარგლებში შემუშავებული ძრავები. კოსმონავტ–ასტრონავტებისათვის აუცილებელი სიცოცხლის უზრუნველყოფის სისტემები და სხვა ტექნოლოგიები დღემდე წარმატებით გამოიყენება.

თავი 2. ასტრობიოლოგია, კოსმოსური ბიოლოგია და მედიცინა

შვედი პანსპერმიის თეორიის იდეოლოგი სვანტე არენიუსი ამტკიცებდა, რომ მარსზე სიცოცხლე იყო ან ოდესღაც არსებობდა, ვინაიდან მარსიდან დედამიწამდე მანძილის გათვალისწინებით შესაძლებელი იყო ერთი პლანეტიდან მეორეზე სიცოცხლის გადატანა [8]. ეს იდეა ბევრი მეცნიერის მიერ იქნა გაზიარებული. კალიფორნიის უნივერსიტეტის პროფესორი პერსივალ ლოველი იყო პირველი, რომელიც დედამიწაზე არსებულ ექსტრემალურ ეკოსისტემათა ანალოგური გამოყენებით ცდილობდა დაემტკიცებინა მარსზე სიცოცხლის არსებობა [9]. პროფესორი ფრედ უიპლი თავის წიგნში საუბრობდა კაცობრიობის მიერ მთვარისა და მარსის ათვისების აუცილებლობაზე [10].

პირველი სამეცნიერო–ექსპერიმენტული შრომები ასტრობიოლოგიის დარგში ეკუთვნის საბჭოთა მეცნიერს – გავრიილ ტიხოვს, რომელიც იყო კოსმოსის სპექტროსკოპული კვლევების ინოვატორი და რამდენიმე წლის განმავლობაში აწარმოებდა დაკვირვებებს პლანეტა მარსის ზედაპირზე [11]. ტიხოვმა განსაკუთრებული ყურადღება დაუთმო მარსზე მცენარეული საფარის შესაძლო არსებობის შესწავლას; რამდენიმე წლის განმავლობაში მან ჩაატარა კვლევები მარსზე ქლოროფილის შთანთქმის ხაზების აღმოჩენის მიზნით და მიიღო უარყოფითი შედეგი, მიუთითებდა რა მარსზე მცენარეული საფარის არარსებობაზე, თუმცა დაამკვიდრა ტერმინი “ასტრობოტანიკა” [12]. რამდენიმე წლის შემდეგ ტიხოვმა თავისი გამოკვლევები მიმართა არა მარსზე მცენარეების აღმოჩენისაკენ, არამედ პლანეტის გამწვანების შესაძლებლობის კვლევისაკენ და ივარაუდა მათი შესაძლო ადაპტაციურ–ფიზიოლოგიური თავისებურებები – ფოთლების პიგმენტური კომპოზიციების ცვალებადობა მარსზე არსებულ პირობებში გადარჩენისათვის. სწორედ ამ დროს იყო გამოყენებული პირველად ტერმინი “ასტრობიოლოგია” [13]. გავრიილ ტიხოვის შრომების ბიოლოგიური მხარე 60–იან წლებში გააკრიტიკა აკადემიკოსმა კრონიდ ლიუბარსკიმ, მიუთითებდა რა მარსზე ხელოვნურად შექმნილი მცენარეული საფარის არსებობის აუცილებელ ბიოლოგიურ წინაპირობებზე; ლიუბარსკი მიუთითებდა ახალი სამეცნიერო მიმართულების – ბიოქიმიის მნიშვნელოვან

როლზე შესაძლო უცხოპლანეტური ორგანიზმების კვლევის კვალიფიციურად ჩატარებისათვის. სწორედ მან ახსენა პირველად ტერმინი "ქრომატული კომპლემენტური ადაპტაცია" მარსზე სავარაუდოდ არსებულ სიცოცხლესთან მიმართებაში [14]. კოსმოსის მასშტაბით საცხოვრებელი გარემოსადმი ცოცხალი ორგანიზმების ბიოქიმიური ადაპტაციების შესახებ მნიშვნელოვანი კვლევები ჩაატარა შვედმა ასტრონომმა ვალდემარ ალექს ფირსოვმა; მის წიგნში [15] აღწერილია ელემენტებისა და პოლარული გამხსნელების როლი სხვადასხვა პლანეტებზე სიცოცხლის ჩასახვისა და ორგანიზაციისათვის; განხილულია ისეთი საკითხები, როგორებიცაა სილიკო–გერმანიუმორგანული სიცოცხლე და თხევადი ამიაკისა და ფოსფინის, როგორც უნივერსალური გამხსნელების როლი ექსტრემალურად ცივი კოსმოსური ეკოსისტემებისათვის. ამ ნაშრომში პირველად არის ნახსენები ტერმინი "ეგზობიოლოგია". მის შრომებს ეფუძნება დღეს სატურნის მთვარის – ტიტანის ბიოქიმიური პოტენციალის კვლევა.

60–იან წლებში ასტრობიოლოგია ოფიციალურ სამეცნიერო მიმართულებად აღიარეს. ამერიკის შეერთებულ შტატებში ამ მიმართულებას სათავეში ჩაუდგა სარაკეტო ინჟინერიის ხელმძღვანელი რობერტ გოდარდი [16], ხოლო საბჭოთა კავშირში – გავრიილ ტიხოვი. ამ და სხვა მეცნიერთა ხელმძღვანელობით ჩატარებული მრავალწლიანი სამეცნიერო ასტრობიოლოგიური შრომები გამოქვეყნებულია რუსულ და ინგლისურ ენებზე გამოცემულ ოთხტომეულში [17]. მარსის გრუნტისა და ატმოსფეროს ბიორემედიაციის ამსახველი ერთიანი ლიტერატურა პრაქტიკულად არ არსებობს. დღეისათვის მარსის ათვისების პროგრამას ეძღვნება გზამკვლევები, რომლებიც განსაზღვრავენ მთვარისა და მარსის კოლონიზაციისა და ტერაფორმირების ტექნოგენურ და საინჟინრო ასპექტებს [18, 19, 20, 21, 22, 23]. პირველი ლიტერატურა ამ თემატიკაზე გამოქვეყნებულია 2004–2016 წლებში შოთა რუსთაველის ეროვნული სამეცნიერო ფონდის მიერ დაფინანსებული პროექტის ("მარსის ეკოსისტემის იმიტაცია - ახალი ტექნოლოგიებისა და მეთოდების შემუშავება პლანეტის ტერაფორმირებისათვის აუცილებელი ზოგიერთი პრაქტიკული ამოცანის გადასაჭრელად"; N GNSF/ST08/6-221) ფარგლებში [24, 25, 26, 27, 28, 29, 30].

თავი 3. მარსზე არსებული გარემო პირობების იმიტაცია ასტრობიოლოგიური კვლევებისათვის

მარსის ათვისების ბიოლოგიურ საკითხებზე ექსპერიმენტები მთელ მსოფლიოში ტარდება კამერებში, სადაც ხდება პლანეტის გარემო პირობების, მისი ფიზიკური და ქიმიური პარამეტრების სიმულაცია (გრუნტისა და ატმოსფეროს შედგენილობა, წნევა, ტემპერატურა, განათებულობა – გამოსხივება). დისერტაციაში აღწერილი ექსპერიმენტები ტარდებოდა ჩვენს მიერ შექმნილ კამერაში "ხელოვნური მარსი".

მარსის კამერის ყველაზე ადრეული კონსტრუქცია აღწერილია ჯერ კიდევ 1959 წელს, როდესაც ზოგიერთი ბიოლოგიური მასალა (ძირითადად – მიკროორგანიზმები) მარსის პირობებში გადარჩენა – გამძლეობაზე შეამოწმეს. შედეგები მოხსენიებული იყო იმავე წელს, ლონდონში, ასტრონავტიკის საერთაშორისო კონგრესზე [31]; 1965 წელს გამოქვეყნდა NASA–ს და საბჭოთა მეცნიერების ერთობლივად ჩატარებული მსგავსი ექსპერიმენტების შედეგები [32]; სახელდობრ, ეს ექსპერიმენტები ჩატარებული იყო კამერაში "ხელოვნური მარსი", სადაც მიკროორგანიზმები განიცდიდნენ მარსის ფიზიკური პარამეტრების ზემოქმედებას, თუმცა, ამ ექსპერიმენტებში განათების წყაროდ გამოიყენებოდა კვარცის ულტრაიისფერი ნათურა ვიწრო ბაქტერიციდული დიაპაზონით, რაც დღეისათვის ამ ექსპერიმენტების მნიშვნელოვან ხარვეზადაა მიჩნეული, ვინაიდან დისკრეტული მოკლეტალღოვანი ულტრაიისფერი გამოსხივება პლანეტა მარსის ზედაპირზე რეალურად არსებული მზის განათებულობის ძალიან მცირე ნაწილია; გარდა ამისა, ამ იმიტაციურ კამერებში არ იყო დაცული დღე–ღამის მონაცვლეობის რეჟიმი, და არ იყო გათვალისწინებული მზის გამოსხივების სპექტრული შედგენილობა და ინტენსიობა. ექსპერიმენტების უმეტესობა ჩატარებული იქნა 23 მმ სისქის მემბრანულ ფილტრებზე და კვარცული მინის კიუვეტებში, და არა მარსის ხელოვნურ გრუნტში. შესაბამისად, შეიძლება დავასკვნათ, რომ 1965 წელს შექმნილ "ხელოვნურ მარსზე" ცოცხალი ორგანიზმებისათვის შექმნილი პირობები იყო გაცილებით უფრო მკაცრი, ვიდრე სინამდვილეში შეიძლება

არსებობდეს თვით პლანეტა მარსზე [33]. მიუხედავად ამისა, აღმოჩნდა, რომ ბევრი მიკროორგანიზმი მსგავს პირობებშიც გადარჩება და გამრავლდება. ექსპერიმენტების შედეგები დაწვრილებითაა აღწერილი ასტრობიოლოგიის ოთხტომეულში [17]. უნდა აღინიშნოს, რომ მსგავსი აცდენები მარსის რეალურ პირობებთან მიმართებაში დღეს არსებულ ზოგიერთ კამერაშიც გვხვდება [34].

სამეცნიერო ლიტერატურაში აღწერილია 1966 წელს NASA–ს მიზნობრივი კვლევების ცენტრში არსებული მარსის ულტრაიისფერი სიმულაციის განყოფილება, სადაც საბჭოთა კავშირის მსგავსი ექსპერიმენტები ტარდებოდა სინთეზურ მასალებზე, სადაც გადამოწმებული იყო "ხელოვნურ მარსზე" მიღებული შედეგები. 1979 წელს ყველა ექსპერიმენტი გაიმეორეს მარსის ხელოვნურ გრუნტში, "Viking"–ლენდერების მიერ გადმოცემული გრუნტის ქიმიის მონაცემებზე დაყრდნობით. ამ ექსპერიმენტების დროს 100–მდე ნიმუში გამოიცადა 100–700 საათის განმავლობაში [35].

პადუას უნივერსიტეტში აგებულ მარსის გარემო პირობების სიმულატორში ჩატარებული იქნა (The Martian Environment Simulator – SAM) დამოუკიდებელი ასტრობიოლოგიური ექსპერიმენტები [36]. ამ კამერაში გათვალისწინებულია მარსის დღე–ღამური და სეზონური ციკლები, თუმცა ექსპერიმენტები მხოლოდ ულტრაიისფერი გამოსხივების პირობებში იქნა ჩატარებული.

NASA–ს კენედის სახელობის კოსმოსურ ცენტრში ჩატარებული იქნა ექპერიმენტები [37] და ნაჩვენები იყო, რომ მზით განათებულ მარსის ზედაპირზე ბაქტერიებს თითქმის არ აქვთ გადარჩენის შანსი, თუმცა ხომალდების შიდა ნაწილებზე და გრუნტში ბაქტერიებს შეუძლიათ გაუმკლავდნენ მარსზე არსებულ ექსტრემალურ პირობებს [38, 39]. მარსის იმიტირებულ პირობებში მიკროორგანიზმებზე დაკვირვება ამ კამერაში დღემდე ინტენსიურად მიმდინარეობს [40, 41, 42]. NASA–ს მარს– და მთვარემავალთა მონიტორინგის ცენტრში მუშაობს მარსის კამერა, რომელშიც იმიტირებულია მარსის მეტეოროლოგიური პირობები [43, 44]; ზომებიდან გამომდინარე, ამ კამერაში შესაძლებელია პლანეტა მარსის ზედაპირზე ასტრონავტების ყოფნის იმიტირება.

ვაშინგტონის უნივერსიტეტში მუშაობს მარსის ატმოსფეროს სიმულაციური კამერა, რომელშიც დიდი სიზუსტით მოდელირდება პლანეტის ატმოსფერული პარამეტრები და ასევე ორიენტირებულია მარსზე საკაცობრიო მისიების შესრულებაზე. [45, 46, 47]. გერმანიის კოსმოსურ ცენტრს (DLR – German Aerospace Center) ევროპის კოსმოსური საგენტოს პროგამების ფარგლებში საკუთრებაში აქვს მარსის პირობების სიმულაციისათვის განკუთვნილი ორი მცირე კამერა [48, 49], სადაც შეისწავლიან მიკროორგანიზმების გამძლეობას. მსგავსი კამერები მოიპოვება აგრეთვე ბრიუსელში, ამსტერდამის უნივერსიტეტში [50] და ბრიტანეთის ღია უნივერსიტეტში [51], ჩინეთის ტექნოლოგიურ ინსტიტუტში [52] და მადრიდის უნივერსიტეტში [53].

თავი 4. მარსის გრუნტის გეოქიმიური შედგენილობა

მარსის გრუნტის გეოქიმიური შედგენილობა პირველად განისაზღვრა 1975–76 წლებში “Viking 1” და Viking 2” ლენდერების მიერ http://www.jpl.nasa.gov/missions/viking-1/. ანალიზების შედეგად გამოიკვეთა მეტალების ოქსიდების, ბაზალტისა და ცეოლითის მსგავსი მინერალების არსებობა. ანალიზის შედეგები აღწერილია ლიტერატურაში [54]. მარსის გრუნტის (ზედაპირზე, მინერალებზე და სიღრმეში) დეტალური ექსპერიმენტები ჩაატარა ლენდერმა “Phoenix” (The Phoenix Wet Chemistry Laboratory (WCL). 2008 წლის ზაფხულის განმავლობაში “Phoenix Mars Lander”–მა ჩაატარა გრუნტისა და ყინულის ქიმიურ–მინერალოგიური ანალიზი (Wet Chemistry Laboratory – WCL) საშუალებით და მოახდინა არაორგანული ანიონებისა და კათიონების განსაზღვრა: Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+}, Na^{+}, NH_4^{+}, Cl^{-}, Br^{-}, I^{-}, NO_3^{-}, ClO_4^{-} და SO_4^{2-}; ვოლტმეტრული მეთოდით (Anodic Stripping Voltammetry – ASV) განისაზღვრა ჟანგვა–აღდგენას დაქვემდებარებული იონები, შემოწმდა მძიმე მეტალების იონების არსებობის შესაძლებლობა, როგორიცაა Cu^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}, Hg^{2+}. პოტენციომეტრების მეშვეობით განისაზღვრა *pH*~7.2-9.6 და ქლორიდებისა და ბრომიდების შემცველობა.

ანალიზის მიზნით “Phoenix”-ის მიერ აღებული იქნა 1 სმ³ გრუნტი, რომელიც მოთავსდა 25 მლ სტერილურ ბიდისტილატში; შემოწმდა 100 სხვადასხვა ლოკაცია. ხსნადი კომპონენტების ანალიზის შედეგად ზედაპირიდან და 5 სმ სიღრმეზე გაიზომა გრუნტის pH~7.7–9.6 და ნაპოვნი იქნა პერქლორატები ClO_4^- [55]. აღმოჩნდა, რომ პერქლორატების ძირითადი წყაროა 60% $Ca(ClO_4)_2$ და 40% $Mg(ClO_4)_2$ [56], მარსის გრუნტის დეტალური იონური შედგენილობა მოცემულია [57], “Phoenix” მისიის მიერ ჩატარებული ანალიზების სრული ანგარიში მოცემულია [58], “Pathfinder”–ის მონაცემები (მარსის ზედაპირიდან აღებული გრუნტის ანალიზი) მოცემულია [59].

<u>მზის გამოსხივების შეღწევადობა მარსის გრუნტში</u>.

გარკვეული სისქის გრუნტში გამოსხივების შეღწევადობა დამოკიდებულია დამოკიდებულია გამოსხივების ტიპზე (ფოტონური ენერგია), ნივთიერების სიმკვრივეზე და შემავალი ელემენტების ატომურ რიცხვზე [57]. ელექტრომაგნიტური ტალღის ინტენსივობა I ბირ-ლამბერთის კანონის მიხედვით ექსპონენტურად იკლებს:

$$I(z) = I_0 e^{-\alpha z} \quad (1)$$

შეღწეული ფოტონების (ელექტრომაგნიტური ტალღის) სიმძლავრე **δe** დამოკიდებულია მასალის გამჭვირვალობაზე, ანუ ზედაპირის ფართობზე, ფაზაზე, ამპლიტუდაზე, ჩაქრობაზე, არეკვლის კოეფიციენტზე და გაბნევის კოეფიციენტზე. გამჭვირვალობა აღიწერება მათემატიკური განტოლებით:

$$\frac{\omega}{c}\mathrm{Im}(\tilde{n}(\omega)) = \frac{2\pi}{\lambda}\mathrm{Im}(\tilde{n}(\omega)) \quad (2)$$

სადაც $\tilde{n}$ არის არეკვლის ინდექსი, **ω** - გამოსხივების სიხშირე რადიანტზე, **m** - მეტალური არეკვლის ინდექსი, **λ** - ტალღის სიგრძე.

მარსის გრუნტის რთული შედგენილობიდან გამომდინარე (ცხრილი 16.1), მასში გამოსხივების შეღწევადობის გამოთვლა დიდი სირთულებთანაა დაკავშირებული, იმის გათვალისწინებით, რომ პლანეტაზე გრუნტის განაწილება უნივერსალური არ არის.

ნაწილი II. საკვლევი მასალა და მეთოდები

თავი 5. ექსპერიმენტული კლიმატური კამერა "ხელოვნური მარსი"

მარსზე არსებული ელექტრომაგნიტური გამოსხივების თეორიული მოდელის შემუშავებამ [25, 29. 30] საშუალება მოგვცა მოგვეხდინა მარსზე არსებული მზის გამოსხივების სრული სპექტრული დიაპაზონისა და ინტენსიობის ტექნიკური იმიტირება მარსის კამერაში "ხელოვნური მარსი", რაც პატენტირებული იქნა 2011 წელს (GEO PAT 12 522/01); როგორც განისაზღვრა, მარსის ზედაპირზე მზის გამოსხივების მაქსიმალური ინტენსივობა შეიძლება იყოს E=62,05–65,03mw/cm^2 ფარგლებში; ამგვარად, ეს ინტენსივობაა იმიტირებული მარსის ეკვატორული შუადღისათვის, სახელდობრ, ამ ინტენსიობის იმიტირებისათვის უწყვეტი სპექტრის 400-ვატიანი ნათურა სამუშაო ზედაპირისა და ნიმუშებისაგან 45 სმ-ს დაშორებით განთავსდება. ამ r მანძილის კალკულაცია ეფუძნება ელემენტარულ გამოთვლებს:

$$\frac{400wt}{4\pi r^2} = E = 65.03mw/cm^2 \quad (3)$$

ამრიგად, "ხელოვნურ მარსზე" არსებული შუადღის გამოსხივების ინტენსივობა მარსის ეკვატორზე რეალურად არსებული გამოსხივების მსგავსია, ისევე, როგორც დილის, საღამოს და დღის ინტენსიობები და მათი ცვალებადობა (სურათი 15.1 – 15.4). განათებულობის იმიტირებული მაქსიმუმი და დღიური ვარიაციები მაქსიმალურად მიახლოებულად უზრუნველყოფს მარსის ზედაპირზე რეალურად არსებული ელექტრომაგნიტური გამოსხივების ინტენსიობების ცვლას, რაც მარსისეულ ორგანიზმებში ადაპტაციური მექანიზმების წარმოშობა-გააქტიურებას იწვევს [30].

ამასთან ერთად, ჩვენს მიერ გამოთვლილი მონაცემები გამოყენებულია მარსის კამერაში ზედაპირული ტემპერატურების იმიტირებისათვის, რომელიც ელექტრული სქემის, მათემატიკური პროგრამისა და დამხმარე კომპიუტერის მეშვეობით ავტომატურად რეგულირდება. ყველა ეს ფიზიკური თუ

კლიმატური პარამეტრი მარსის 24 სთ 39 წთ ხანგრძლივობის დღე-ღამის ანალოგიურად ცვალებადობს (იხ. შედეგები). როგორც აღვნიშნეთ, მარსზე არსებული ძალზე გაუხშოებული ატმოსფეროს გამო ტემპერატურა მიღებულია, როგორც განათებულობის ინტესიობის ფუნქცია და განსაზღვრულია პლანკის კანონით (მზისთვის - 6000 ˚K) [30, 31].

მარსის გეოლოგიური პარამეტრები ასევე მნიშვნელოვან როლს თამაშობს გამოსხივების იმიტირებისათვის. ამ მხრივ, მარსის გრუნტში სიცოცხლის ფორმების გადარჩენა და ფუქციონირება სავსებით შესაძლებელია. მარსის ზედაპირზე მზის გამოსხივების მოდელების უმეტესობათა მიხედვით, მარსის გრუნტში მაიონიზებელი რადიაცია მხოლოდ რამდენიმე სანტიმეტრით თუ შეაღწევს [51, 56, 57, 58]. ამასთანავე, ჩვენი მოდელი ადასტურებს, რომ დედამიწის ზედაპირთან შედარებით, მარსზე არსებული ყველა სახის გამოსხივების ინტენსიობა შესამჩნევად დაბალია, თუმცა გრუნტიდან არეკვლილმა გამოსხივებამ შეიძლება გარკვეული ფიზიოლოგიური ზემოქმედება მოახდინოს ორგანიზმებზე. თუმცა, ვინაიდან ”ხელოვნურ მარსზე” მარსის ხელოვნური გრუნტია გამოყენებული, გამოსხივების მეორადი პარამეტრები არ იქნა ცალკე გათვალისწინებული.

თავი 6. მარსისეული გარემოს სხვა ფიზიკური პარამეტრების უზრუნველყოფა

<u>კამერა ”ხელოვნური მარსი”:</u> მარსის კლიმატური პირობების საიმიტაციო კამერაში უზრუნველყოფილი იყო ტემპერატურისა და ატმოსფერული პარამეტრების ცვალებადობა CO_2-ის ბალონების, მაცივარ-დანადგარისა და მშრალი ყინულის მეშვეობით. ერთად-ერთ სირთულეს წარმოადგენდა მარსის ზედაპირზე არსებული წნევის და გრავიტაციის უზრუნველყოფა. ამ მხრივ, ტუმბოს მეშვეობით შესაძლებელი იყო დედამიწის ზედაპირზე, ზღვის დონეზე არსებული წნევის ერთი მესამედის (35000 პა) მიღწევა. ამიტომ მიკროორგანიზმებს პერიოდულად ვათავსებდით CO_2-ის მაცივარ ვაკუუმ–

კამერაში (ThermoScientific CO_2 vacuum-chamber HERACELL VIOS), სადაც დაბალი ტემპერატურებისა და წნევისადმი შეგუებულ შტამებს გადავარჩევდით შემდგომი კვლევებისათვის. "ხელოვნური მარსი"-ს ტექნიკური დეტალები დაწვრილებითაა წარმოდგენილი დისერტაციაზე თანდართულ პუბლიკაციებში [29-30] (დანართი 1 და დანართი 2).

<u>მარსის გრუნტის იმიტაცია</u>

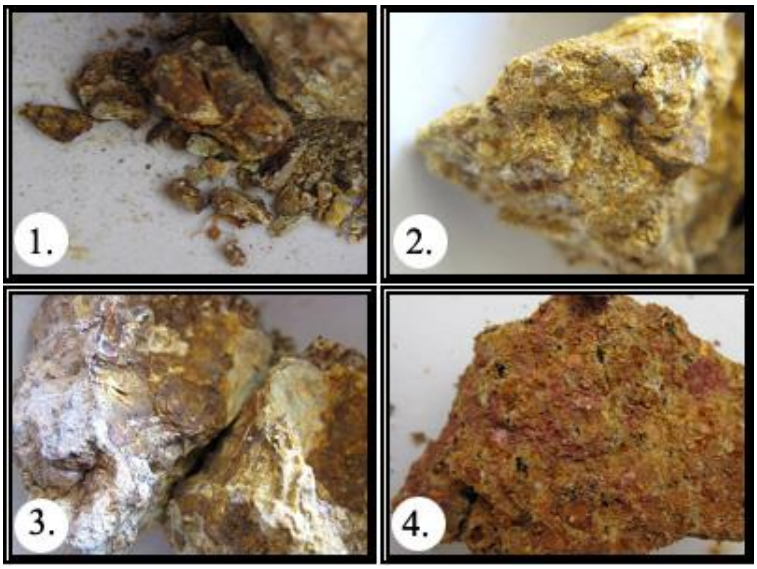
მთვარის გრუნტისაგან განსხვავებით, დედამიწაზე არ არსებობს მარსის ნამდვილი გრუნტის ნიმუში. მთვარის გრუნტის ნამდვილი ნიმუშები ჩამოიტანეს "APPOLO"-ს სხვადასხვა მისიათა ასტრონავტებმა და ეს ქანები გულდასმითაა შესწავლილი დედამიწაზე, რაც შეეხება მარსის გრუნტს, მარსიდან აპარატის დაბრუნების მისია ჯერ-ჯერობით არ განხორციელებულა და გრუნტის ქიმიური შემადგენლობის დადგენა მოხერხდა მხოლოდ ორბიტული ხელსაწყოების, ლენდერებისა და როვერების მეშვეობით.

სწორედ ამიტომ, შეიქმნა მარსის გრუნტის ხელოვნურად იმიტირების აუცილებლობა. ინტერნეტში და სპეციალურ ლიტერატურაში, მარსის გრუნტის შედგენილობის შესახებ უახლესი ინფორმაციის შეჯერების შემდეგ, მოხდა მარსის იმიტირებული გრუნტის დამზადებისათვის საჭირო ნივთიერებათა დეტალური ჩამონათვალის მომზადება, რაოდენობრივი და თვისობრივი შედგენილობის გათვალისწინებით. განხილული იქნა სამეცნიერო ინფორმაცია, რომლებიც NASA-ს და ESA-ს ინტერნეტის გვერდებზე განთავსდება; ასევე, მრავალი სამეცნიერო სტატია [51-59]. ჩატარდა მარსის ხელოვნური გრუნტის პირველადი სტანდარტული თვისობრივი და რაოდენობრივი ანალიზი: გამოწვა, დალექვა, აქროლება, ურთიერთქმედება რეაქტივებთან, თვისობრივი რეაქციების ჩატარება სხვადასხვა იონებზე. ამით მტკიცდება, თუ რამდენად ახლოსაა მიღებული ნიმუში მარსის გრუნტის შედგენილობასთან. სურათი 16.1, დიაგრამა 16.2 და ცხრილი 16.1 (იხ. შედეგები). მარსის ნამდვილი და იმიტირებული გრუნტის FT-IR არეკვლითი სპექტრების შედარება ასახულია პუბლიკაციაში [60]. (დანართი 3).

თავი 7. მარსის იმიტირებულ გრუნტში მიკროორგანიზმების განთესვის სპეციფიკური მეთოდები

ექსპერიმენტების პირველ ეტაპზე, განვახორციელეთ მარსის იმიტირებული ნიადაგის დამუშავება სპონტანურად შერჩეული ბაქტერიული ნარევით, სადაც წარმოდგენილი იყო საქართველოს ექსტრემალურ ეკოსისტემებში (მაღალმთიანი რეგიონები, ცივი და ცხელი მიწისქვეშა და მიწისზედა რკინა–გოგირდოვანი წყაროები, გეიზერები და ფეროსილიკატური გრუნტი) მოპოვებული ციანობაქტერიების, რკინა-, გოგირდ- და სილიკობაქტერიების სახეობათა ნარევი. საქართველოში რკინისა და გოგირდოვანი ნაერთების ჭარბად შემცველი ნიადაგის ათვისების საუკეთესო ნიმუშს წარმოადგენს ე.წ. რკინის წყაროების წარმომშობი ნიადაგების ათვისება ბაქტერიული ორგანიზმების მიერ. ვინაიდან მარსის გრუნტი ქიმიური აგებულებით მსგავსია, შეგროვებული ნიმუშებიდან მოვახდინეთ სხვადასხვა გვარის ბაქტერიების იზოლირება და საკვებ არეზე გადატანა. (სურათი. 7.1).

სურ. 7.1. საქართველოს ექსტრემალურ ეკოსისტემებში მოპოვებული რამდენიმე ნიმუში:1. წაღვერი; 2. სუფსის გოგირდის წყარო, 3. ყაზბეგი. 4. აჭარა



მიკრობები განთესილი იყო მარსის გრუნტის ოც ნიმუშზე სინჯარებში, რომლებიც წინასწარ იყო გასტერილებული ავტოკლავში და ულტრაიისფერი სხივებით; სტერილიზაციის შემდეგ სინჯარები დავხურეთ ბამბის საცობებით,

და განვათავსეთ ოთახის ტემპერატურაზე ბუნებრივი განათების პირობებში. ამ ეტაპზე გვაინტერესებდა ავტოტროფული ორგანიზმები, რომლებიც შეძლებდნენ მარსის ხელოვნურ გრუნტში გადარჩენას, ხოლო პლანეტა მარსის სხვა აბიოტური პარამეტრები დროებით გამოვრიცხეთ. დაკვირვებას ვაწარმოებდით გრუნტის ფერსა და სტრუქტურულ ცვლილებებზეც.

თავი 8. მარსის გრუნტში მიკრობების გადარჩენისა და ზრდის დინამიკის განსაზღვრა

ჩვენი ემპირიული ექსპერიმენტებიდან და მიღებული შედეგებიდან გამომდინარე, მარსის იმიტირებულ გრუნტში მიკრობების ზრდის დინამიკის დაფიქსირების მიზნით, ვიყენებდით მოდიფიცირებულ მეთოდს, რომელიც დაფუძნებული იყო ლიტერატურაში აღწერილი კლასიკური მეთოდების ურთიერთ–შეჯერებაზე. შედეგების საიმედოობისა და სტატისტიკური გათვლებისთვის, თითოეული ნიმუშისთვის გამოყენებული გვქონდა უჯრედების თვლის რამდენიმე სვადასხვა მეთოდი:

1. მარსის გრუნტისადმი შეგუებული მიკროორგანიზმების ფაქტიურ ზრდას ვაფიქსირებდით ე.წ. “გორგლების” ზრდიდან გამომდინარე, რაც ტიპიურია დედამიწაზე ნიადაგის ბაქტერიებისათვის. გრუნტის მასალაზე ”გორგლების” წარმოქმნა გრძელდება ინკუბირების მთელი პერიოდის მანძილზე;
2. უჯრედების მიკროსკოპული თვლა ვინოგრადსკი–ბრიდის მეთოდით (ვიყენებდით ჰემატოციტომეტრს) [61-62];
3. სერიული განზავება [63 - 64];
4. მეტაბოლიტების კონცენტრაციის განსაზღვრა [65-70];
5. მაკ–ფარლანდის მეთოდი [71].

ექსპერიმენტის შემდეგ ეტაპზე მარსის ხელოვნურ გრუნტში გადარჩენილი ორგანიზმები გავანაწილეთ 3 პარალელურ კოლონიებად ავტოტროფულ საკვებ ნიადაგზე (ჰეტეროტროფული ორგანიზმების სუპრესიის მიზნით, კლასიკურ ნიადაგში აგარი და სხვა ორგანული კომპონენტი ჩანაცვლდა სილიკაგელით,

რომელიც წარმოადგენს ჰიდრატირებულ სილიციუმის ოროქსიდს (მარსის რეალური გრუნტის ერთ–ერთი, უფერო კომპონენტი) [72-73] პეტრის ჯამებზე (10 მლ) და განვათავსეთ ლაბორატორიულ პირობებში. ამ ექსპერიმენტის მიზანი იყო:

1. მიკროორგანიზმების გაცალკევება კვების ტიპის მიხედვით (რკინა, გოგირდის, აზოტოვანი, მეთანობაქტერიები და სხვა);
2. ავტოტროფულ ნიადაგზე ზრდის სტანდარტული მრუდის დადგენა (კონტროლი);
3. მაკ–ფარლანდის ნეფელომეტრული (სპექტროსკოპული) სტანდარტების განსაზღვრა ავტოტროფული საკვები არეებისა და მიკროორგანიზმის თითოეული სახეობისთვის (ცხრილი 8.1.). [71, 74 - 79];
4. სპექტროსკოპული და მიკროსკოპული მეთოდით განსაზღვრული უჯრედების რაოდენობის თანხვედრის დადგენა თითოეული სახეობისთვის, სერიული განზავების გამოყენებით [78, 79]; გაზომვებისთვის ვიყენებდით სპექტროფოტომეტრს Spectronic 20, Milton Roy Comp.:

მეთოდის ორიგინალობა მარსის გრუნტთან მიმართებაში, ბაქტერიული შტამების გამოზრდისა და განთესვის შემთხვევაში, მდგომარეობდა იმაში, რომ ვახდენდით თითოეული სახეობის და სახეობათა ჯგუფების როგორც ჰეტეროტროფული, ასევე - ავტოტროფული ცხოველქმედების დემონსტრაციასა და ინიცირებას (კოხის განთესვის მეთოდი). ავტოტროფული ცხოველქმედების ინდუცირებისათვის ზემოჩამოთვლილ საკვებ არეებში ყველა ორგანული დანამატის (მათ შორის - აგაროზისა და პეპტონის) ჩანაცვლება ხდებოდა სილიკაგელისა და მარსის იმიტირებული გრუნტის ნარევით. ამ მეთოდის მიზნობრიობა გამართლებულია იმ ფაქტით, რომ პლანეტა მარსი სტერილურია და მასზე არცერთი ფორმით არ მოიპოვება ორგანული ნაერთები; შესაბამისად, ბიორემედიაციის საწყის ეტაპზე ბაქტერიებისათვის არ არსებობს ჰეტეროტროფული აქტიურობის შესაძლებლობა.

ცხრილი. 8.1. მაკ–ფარლანდის ნეფელომეტრული სტანდარტი ავტოტროფული მიკროორგანიზმებისთვის:

მაკ–ფარლანდის სტანდარტის N:	**0.5**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
1.0% ბარიუმის ქლორიდი (მლ)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
1.0% გოგირდმჟავა (მლ)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5
უჯრედული სიმკვრივე (1X10^8 CFU/მლ)	1.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0
შთანთქმა – μ_{max} - 440 ნმ, 510ნმ… ა.შ.	0.08 –0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1.5

ცხრილი. 8.2. ავტოტროფებისთვის განსაზღვრული სპექტროსკოპული მონაცემები შეესაბამება სტანდარტებს, რომლებიც მოცემულია ლიტერატურაში [74-79]:

In vivo **შთანთქმის მაქსიმუმები ავტოტროფებისთვის:**

პიგმენტი	**შთანთქმის მაქსიმუმი**	**მიკროორგანიზმი**
B chl a	850–910	მურა გოგირდოვანი ბაქტერიები
B chl a	350, 805–810	ყველა მწვანე ბაქტერია
B chl b	1020–1035	ყველა მურა ბაქტერია
B chl c	745–760	მეწამული არაგოგირდოვანი ბაქტერიები
B chl d	725–745	მწვანე გოგირდოვანი ბაქტერიები
B chl e	715–725	ყავისფერი გოგირდოვანი ბაქტერიები
B chl g	320-550	ჰელიობაქტერია

მშრალი ბიომასის განსაზღვრის მიზნით კულტურიდან გამოვყოფდით 5 მლ ნიმუშს, ვავსებდით 5 მლ–მდე დისტილირებულ წყალში და ვაცენტრიფუგირებდით 3000 რ/წთ, 5 წუთის განმავლობაში ხელოვნური გრუნტის ნიმუშების მოსაშორებლად. შემდეგ ვათავსებდით CO_2-ით სავსე კონტეინერში, რომელიც შეიცავდა საშრობ სილიკაგელს, და ვტოვებდით 8 საათის განმავლობაში.

თავი 9. უჯრედების თვლის ვინოგრადსკი–ბრიდის მოდიფიცირებული მეთოდი ჰემატოციტომეტრის გამოყენებით

ჩვენს მიერ გამოყენებული ჰემატოციტომეტრის სათვლელი უჯრედების სიღრმე იყო 0,1მმ. ვითვლიდით 1 ცენტრალურ და 4 კიდურა უჯრედს ჯვარედინად. 1 მლ ნიმუშს ვაზავებდით 1 მლ დიაზოტრაიფენის ლურჯით, (რისთვისაც ფორმულაში შემოდის დილუციის ფაქტორი 2x) რომელიც ლურჯად ღებავს მხოლოდ მკვდარ უჯრედებს და არტეფაქტებს. სტატისტიკურად მნიშვნელოვანი მონაცემებისთვის ხუთიდან, საერთო ფართობით 1მმ^2, თითოეულ დიდ უჯრაში ვითვლიდით არანაკლებ 100 სპეციფიკურ უჯრედს. შესაბამისად, 1 მლ ნიმუშში უჯრედების რაოდენობას ვითვლიდით ფორმულით:

$$M = \frac{A \text{ x } S}{V \text{ x } s} \text{ x } n, \qquad (4)$$

სადაც M – არის 1 მლ ნიმუშში უჯრედების რაოდენობა; A – კვადრატში უჯრედების საშუალო რაოდენობა; s და S – უჯრედების რაოდენობა და ფართობი; V –ნიმუშის საერთო რაოდენობა; n – დილუციის ფაქტორი. მიღებულ რაოდენობას ვამრავლებდით ჭურჭელში საკვები არის ან გრუნტის საერთო რაოდენობაზე.

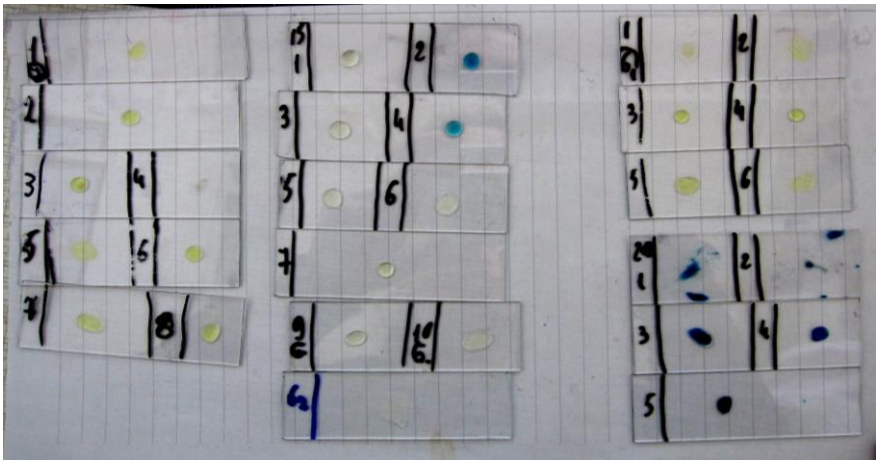
თავი 10. მიკროორგანიზმთა იდენტიფიკაცია კვების ტიპის მიხედვით და მათი აქტიურობის შესწავლა სილიკაგელის ავტოტროფულ საკვებ ნიადაგზე

კვების ტიპის განსაზღვრისათვის ბაქტერიული ”გორგლების” წყლის ფილტრატებს განვათავსებდით მოდიფიცირებულ, ავტოტროფულ საკვებ არეებზე. ზრდის განმავლოვაში განვსაზღვრავდით მიკროორგანიზმების სახეობებს, კვების ტიპს და ოპტიკურ სიმკვრივეებს. ერთი თვის შემდეგ ნაწილი გადაგვქონდა სილიკაგელში, როგორც საკონტროლო მიკროორგანიზმები,

ხოლო ნაწილი - მარსის სტერილურ ხელოვნურ გრუნტში და განვათავსებდით სხვადასხვა გარემოში.

<u>რკინაბაქტერიების</u> იდენტიფიკაციას ვახდენდით მიკროსკოპირების საშუალებით. იმისათვის რომ მოხდეს რკინის შალითების დანახვა, ამზადებენ უჯრედების ფიქსირებულ პრეპარატს, ათავსებენ ნაცხს 3-5 წთ 5 %-იან სისხლის ყვითელ მარილში, შემდეგ გარეცხვის გარეშე 0,2M HCl-ის ხსნარში. სამვალენტიანი რკინის ნალექი ლურჯდება, ხოლო რკინის აღმდგენი ბაქტერიების კოლონიები მოწითალო ფერს იძენს, რაც კარგად ჩანს სასაგნე მინაზე (სურათი 10.1) და მიკროსკოპით. სამვალენტიანი რკინის ლურჯი ნალექის შთანთქმის მაქსიმუმია 440 ნმ. შემღვრევის (ტურბიდულობის) მაქსიმუმის ექსტინქციას ვსაზღვრავდით ნიშნულზე (μmax=1,5), რაც შეესაბამება სტაციონარულ ფაზაში ბაქტერიების რაოდენობას 15X10^8 უჯრ/მლ (განვსაზღვრავდით მიკროსკოპის ქვეშ [74-79].

სურ. 10.1. რკინაბაქტერიების აღმოჩენა და განსაზღვრა სპექტროსკოპული მეთოდით: რკინის მჟანგავი ბაქტერიების ნალექი ლურჯდება (440 ნმ), აღმდგენი – მოწითალო ფერს (510 ნმ) იძენს. შეფერვის ინტენსიობა მაკ–ფარლანდის სტანდარტით თანხვედრაშია ბაქტერიების განსაზღვრულ რაოდენობასთან.



ზრდისა და აქტიურობის შესწავლის მიზნით რკინის აღმდგენი რკინაბაქტერიების შემთხვევაში ვსაზღვრავდით Fe^{3+} შემცველობასა და კულტურაში უჯრედების რაოდენობას, რისთვისაც გამოიყენება

დიფერენციალური სპექტროფოტომეტრული მეთოდი, რომელიც დაფუძნებულია Fe^{3+} იონების სულფოსალიცილის მჟავასთან რეაქციით, რომლის დროსაც *pH*-ის მიხედვით წარმოიქმნება რიგი კომპლექსური ნაერთებისა. უმეტესად, როცა *pH* არის 1,8 - 2,4 წარმოიქმნება მოწითალო-იისფერი რკინის მონოსულფატ-სალიცილატი, რომლის შთანთქმის მაქსიმუმია 510 ნმ. Acidithiobacillus ferroxidans უჯრედების რაოდენობის განსასაზღვრელად ვიყენებდით მიკროსკოპულ თვლას და სპექტროსკოპულ მეთოდს რკინაბაქტერიებისათვის [75-76].

<u>სილიკობაქტერიები</u> ვიზუალურად ამოიცნობა ამობურცული, გამჭვირვალე, ხშირად ლორწოვან კოლონიებით. უჯრედებს ღებავენ ფუქსინით და მეთილის ლურჯით. კაფსულის გამჟღავნება ხდება ტუშით ნეგატიური კონტრასტირების ხარჯზე. სილიკობაქტერიების აქტიურობის შემოწმება შესაძლებელია ვიზუალურად, რამეთუ ისინი ხსნიან ალუმოსილიკატებს, რომლის დროსაც თავისუფლდება წყალში ხსნადი კალიუმის ნაერთები. ბაქტერიული უჯრედების დათვლა კი ხდება სერიული განზავების და სპექტროსკოპული მეთოდით, შთანთქმის ექსტინქციით 600 ნმ –ზე. (μmax=1,5), რაც შეესაბამება სტაციონარულ ფაზაში ბაქტერიების რაოდენობას 15X10^8უჯრ/მლ (განვსაზღვრავდით მიკროსკოპის ქვეშ [74-79].

<u>ნიტრიფიკაციის</u> ბაქტერიები წარმოადგენენ გრამუარყოფით, საკმაოდ წვრილ მიკროორგანიზმებს. ავტოტროფულ საკვებ არეზე თეთრი ან მოყვითალო წვრილი კოლონიებია. ნიტრიფიკატორი ბაქტერიების მიერ წარმოქმნილი ნიტრიტების გამოვლენა მარტივად შესაძლებელია 5%-იან მარილმჟავაში კულტურიანი სილიკაგელის ნაწილის ჩაშვებით. დადებითი რეაქციის შემთხვევაში საკვები არე გალურჯდება (ნესლერი). ასევე შეიძლება NO_2^- და NO_3^- რაოდენობის განსაზღვრა სპექტროსკოპული მეთოდით 460 ნმ–ზე [74-79].

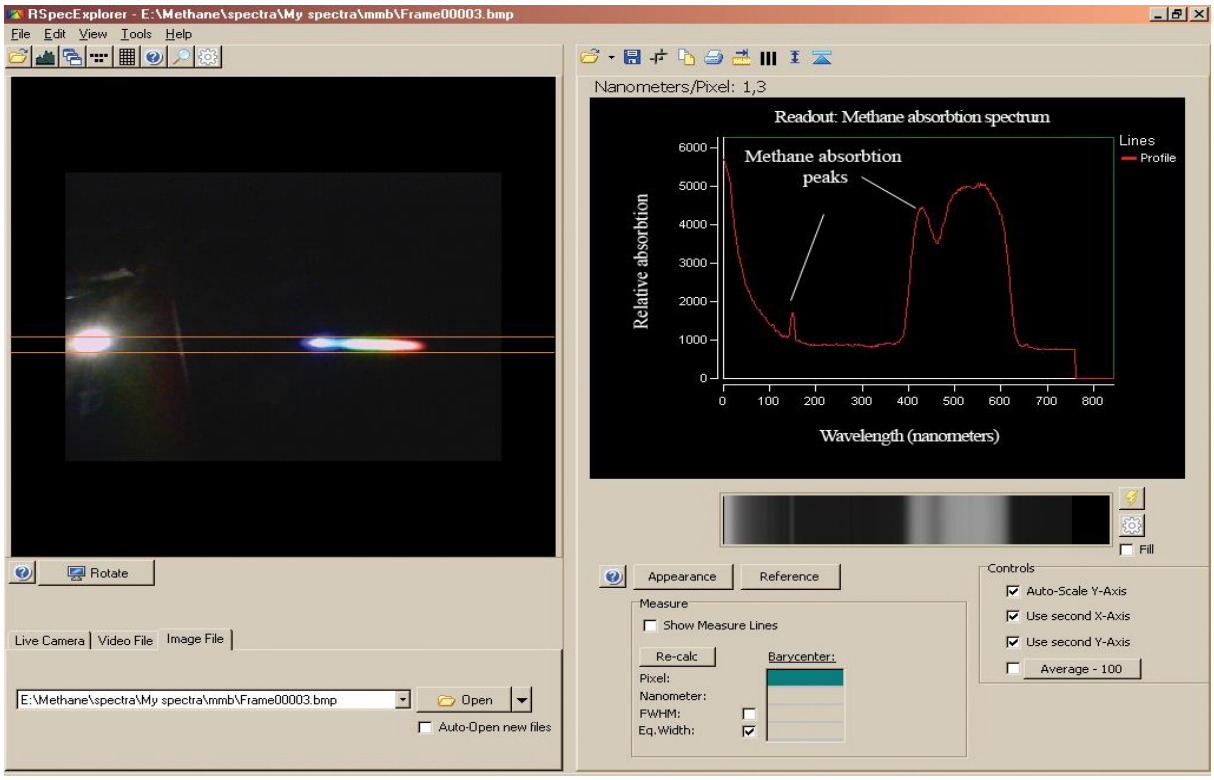
<u>გოგირდბაქტერიები</u> – გოგირდის დეპოზიტი, რომელიც საკვებ არეზე გროვდება, საკმაოდ იოლი შესამჩნევია. $1მ^3$ გოგირდის დეპოზიტის მოცულობაზე ბაქტერიების რაოდენობა განვსაზღვრეთ მიკროსკოპული თვლის მეთოდით [74, 75, 76, 77] და ვახდენდით კორელაციას სერიული განზავების

მეთოდით მიღებულ რაოდენობასთან, რამაც შეადგინა დაახლოებით 15X10^8უჯრ/მლ. სპექტროსკოპულად რაოდენობის განსაზღვრის მიზნით ვახდენდით სერიულ განზავებას და შთანთქმას ვზომავდით 700–900 ნმ–ზე ექსტინქციით μmax=1,5. [75, 76].

<u>მეთანობაქტერიები</u> – ავტოტროფულ არეზე მეთანობაქტერიების უჯრედების არსებობა ვლინდება ბუშტუკების წარმოქმნით და საკვები არის გახლეჩით, რაც გამოწვეულია აირების გამოყოფით. აირები იწვის. საინტერესოა, რომ მარსის იმიტირებულ გრუნტშიც ანალოგიური პროცესები დაიკვირვება. ავტოტროფულ ნიადაგში მეთანობაქტერიების რაოდენობის განსაზღვრის მიზნით.ბაქტერიული უჯრედების დათვლა კი ხდებოდა სერიული განზავების და სპექტროსკოპული მეთოდით, შთანთქმის ექსტინქციით 600 ნმ –ზე. (μmax=1,5), რაც შეესაბამება სტაციონარულ ფაზაში ბაქტერიების რაოდენობას 15X10^8უჯრ/მლ (განვსაზღვრავდით სპექტროსკოპულად 600ნმ-ზე და მიკროსკოპის ქვეშ [50, 55, 56]. მეთანის გამოყოფას ვაფიქსირებდით სპექტრომეტრულად (სურათი 10.2.):

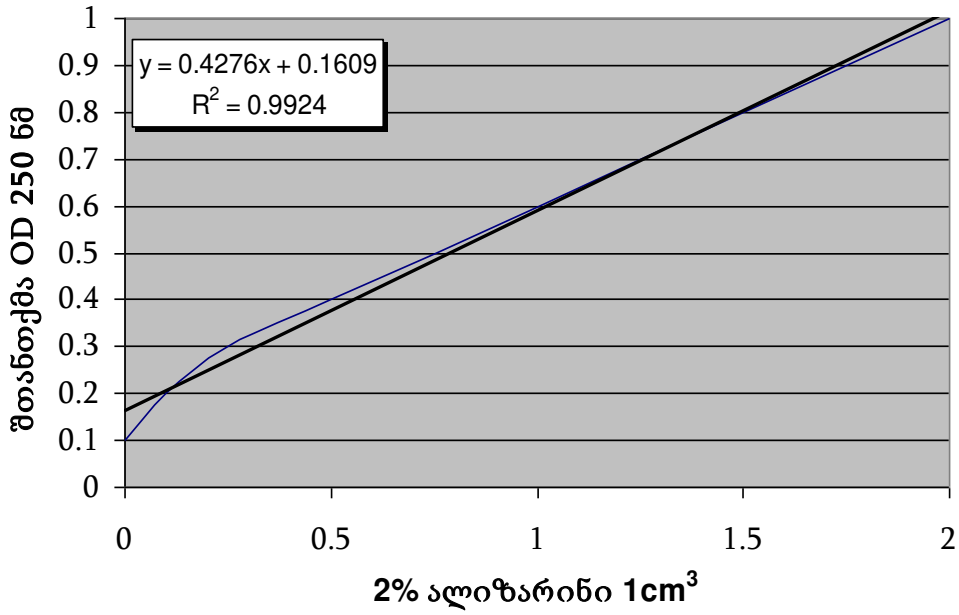
სურათი 10.2. მეთანის გამოყოფის დაფიქსირება სპექტრომეტრულად.

(ხელსაწყო Vernier UAAC/BTA photo-sensor):



პერქლორატ - ბაქტერიები: მარსის გრუნტის უახლესმა ანალიზებმა გამოავლინა ზოგიერთ გეოგრაფიულ ლოკაციაზე მაგნიუმის, ნატრიუმის, კალიუმისა და ამონიუმის პერქლორატების მოჭარბებული რაოდენობა, რაც მასის მიხედვით შეადგენს 0,1-დან 1,5%-მდე. ამ მიზნით მარსის იმიტირებულ პირობებში გამოყვანილი მიკროორგანიზმების შტამები გავთესეთ სილიკაგელზე, რომელსაც პერიოდულად ვამატებდით სხვადასხვა კონცენტრაციის Mg, Ca, K პერქლორატების ნარევს პროპორციით: 5:1:1. წყლით გაჯერებული სილიკაგელის 100 მგ-ში (იხ. სურათი. 22.1. შედეგები). მეორე ეტაპზე, გადარჩენილი სახეობები გადაგვქონდა სილიკატიან ხელოვნურ გრუნტში, ვათავსებდით"ხელოვნური მარსი"-ს პირობებში და ვაფიქსირებდით მათ ზრდას პერქლორატების კონცენტრაციის შემცირებასთან ერთად. ბაქტერიების ზრდას აღვრიცხავდით მაკ-ფარლანდის (OD=600ნმ) და ვინოგრადსკი-ბრიდის კომბინირებული მეთოდით. პერქლორატის კონცენტრაციას განვსაზღვრავდით საღებავის "Alizarin red S" (Sigma_aldrich.com) - ის მეშვეობით 250 ნმ-ზე. რისთვისაც შევადგინეთ სტანდარტული ოპტიკური მრუდი (დიაგრამა 10.3).

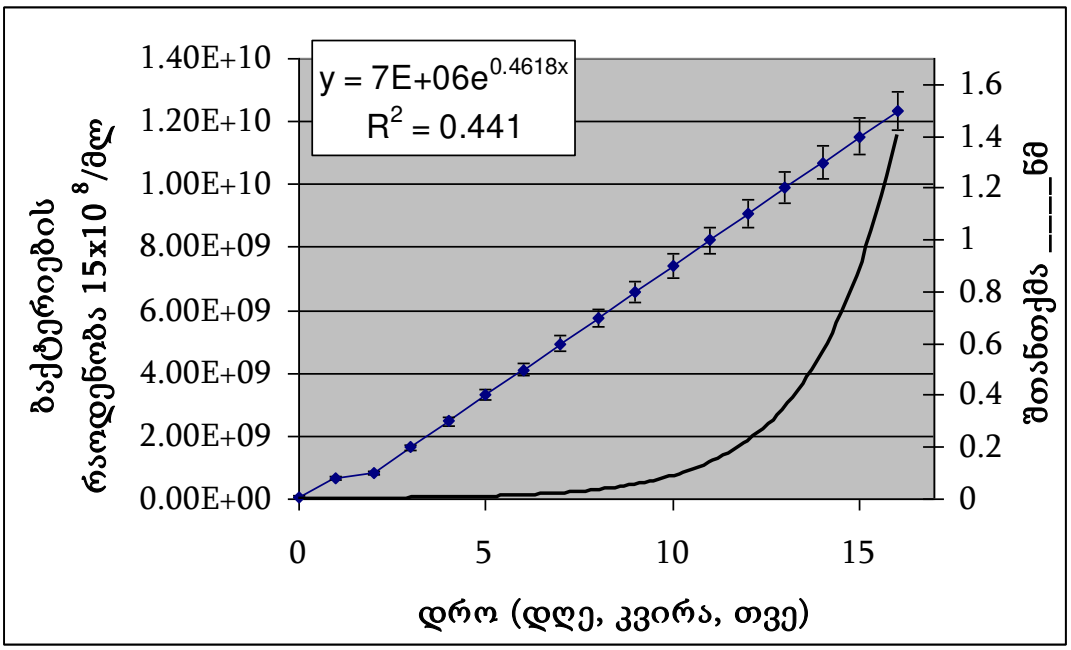
დიაგრამა. 10.3. 2%-იანი ალიზარინის სტანდარტული ოპტიკური მრუდი ულტრაიისფერ უბანში: OD 250 ნმ *pH*~ 9-ზე, *pH*-ის ცვლილება არ ფიქსირდება.



თავი 11. მარსის იმიტირებულ გრუნტში მიკროორგანიზმების ზრდის განსაზღვრა

მარსის იმიტირებულ გრუნტში მიკროორგანიზმების ზრდის შესწავლის ლიტერატურა არ არსებობს. სილიკაგელის ავტროტროფულ საკვებ არეებზე ბაქტერიების ზრდის მრუდებს და სპექტროსკოპულ მონაცემებს მივიჩნევდით სტანდარტად. გენერაციის დროს ვითვლიდით ზრდის მრუდის მიხედვით (დიაგრამა 11.1).

დიაგრამა 11.1. გენერაცია-გაორმაგების დროის გამოთვლა: გარკვეულ ოპტიკურ სიმკვრივეზე (იხ. ცხრილი 8.2. და შთანთქმის მაქსიმუმები თითოეული ტიპის ბაქტერიებისათვის); ვითვლიდით თითოეული სახეობის გენერაციის დროს ზრდის სტარდარტული მრუდის მიხედვით:



შთანთქმის მონაცემების მიხედვით განვსაზღვრავდით გაორმაგების წერტილებს და ვახდენდით მის ექსტრაპოლაციას დროის შესაბამის სკალაზე. ვიყენებდით ფორმულას:

გენერაციის დრო=(დრო შთანთქმამდე 0.4 ნიშნულზე) –

(დრო შთანთქმამდე 0.2 ნიშნულზე)

კონტროლსა და საექსპერიმენტო ნიმუშებს შორის დიდი სხვაობის შემთვევაში ნიმუშში ბატერიების საერთო რაოდენობას ვუმატებდით ხარისხობრივ მაჩვენებელს. ამრიგად, თუ No = პოპულაციის საწყისი რაოდენობა; ხოლო Nt = პოპულაციის რიცხვი t დროისთვის, N = თაობათა რიცხვი t დროისთვის, მაშინ:

$$Nt = N_0 \times 2^n \qquad (5)$$

და ლოგარითმული შკალით:

$$n = \left(\log Nt - \log N_0\right) \qquad (6)$$

მაშინ:

$$n = \left(\log Nt - \log N_0\right) / \log 2 \qquad (7)$$

$$n = \left(\log Nt - \log N_0\right) / 0.301 \qquad (8)$$

ზრდა შეიძლება გამოვსახოთ, როგორც მუდმივა (k), სადაც დროის განმავლობაში თაობათა რაოდენობა გამოითვლება ფორმულით:

$$k = n / t \qquad (9)$$

$$k = \left(\log Nt - \log N_0\right) / (0.301 \times t) \qquad (10)$$

თაობათა გაორმაგების საშუალო მაჩვენებელი (g), არის კოლონიის ზომის გაორმაგება (შეფერილი არეალი, გოგირდოვანი კლასტერი, გრუნტის გორგალი, სხვა). შესაბამისად, გარკვეულ ნმ-ზე, კლასიფიკაციაზე დამოკიდებულებით:

$$Nt = 2N_0 \qquad (11)$$

ჩავსვათ განტოლება (7) განტოლებაში (6):

$$k = \left(\log Nt - \log N_0\right) / \left(0.301 \times t\right) = \log 2 + \left(\log N_0 - \log N_0\right) / 0.301g \qquad (12)$$

ხოლო, პოპულაციის გაორმაგების გამო t= g (დრო არის გაორმაგების ფუნქცია); ანუ ზრდის საშუალო მუდმივა:

$$k = 1 / g \qquad (13)$$

გენერაციის საშუალო დრო:

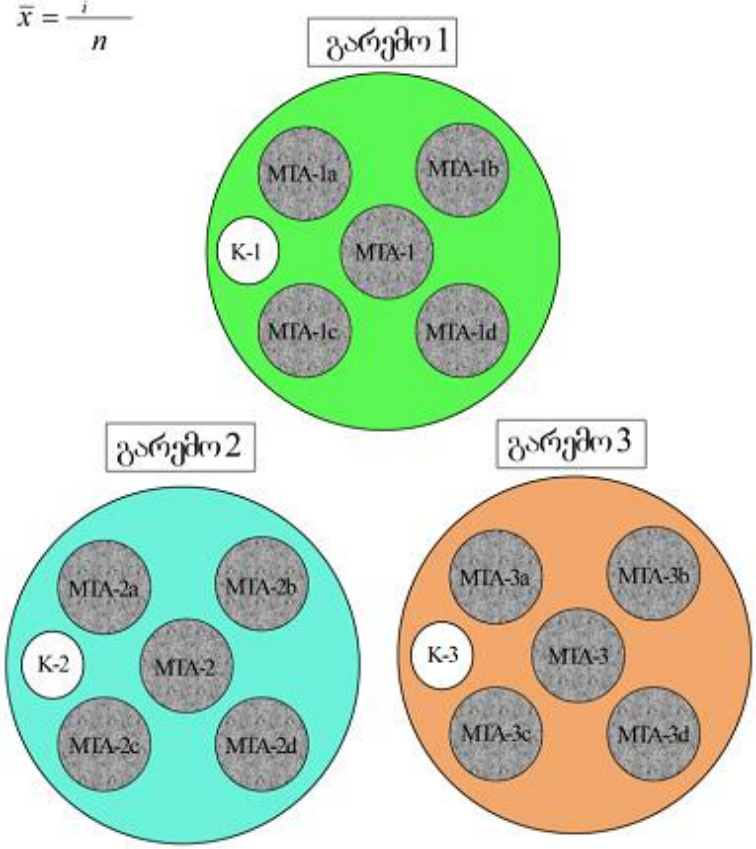
$$g = 1 / k \qquad (14)$$

მიკროორგანიზმების ზრდას ვაკვირდებოდით სამ განსხვავებულ გარემოში (სურათი 11.2): 1. ექსპერიმენტულ კამერაში "ხელოვნური მარსი"; 2. მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიაში დღისა და ულტრაიისფერი გამოსხივების ქვეშ (მარსის დასახლებული სადგურის სათბურის იმიტაცია); 3. მიკრობიოლოგიურ ლაბორატორიაში – დედამიწისეულ პირობებში (კონტროლი).

სურ. 11.2. 13 სხვადასხვა სახეობის შტამი წარმოდგენილი იყო 5 ინდივიდუალურ პოპულაციად (MT1. რკინა-ბაქტერიები; MT2. გოგირდ-ბაქტერიები; MT3. მეთან-ბაქტერიები; MT4. ციანობაქტერიები; MT5. პერქლორატ-ბაქტერიები) და 1 კოლონიური კონტროლით 3 კონდიციაში (გარემოში): 1. დედამიწის (ლაბორატორიული) პირობები; 2. მარსის დასახლებული სადგურის სათბური; 3. მარსის ზედაპირი: MTA (Mars Terraformation Autotrophs); K - კოლონიური კონტროლი. $N_0 = K_0$;

$$N(t) = MT1 + MT1a + MT1b... \quad (15)$$

$$\bar{x} = \frac{\sum_i x_i}{n}$$



მიკროორგანიზმების გადარჩენას და სელექციას ვაკვირდებოდით თითოეული ერთუჯრედიანი ორგანიზმის ცალკეულ სახეობასთან მიმართებაში და აგრეთვე – ეკოლოგიურ ჯგუფებში. მარსის ხელოვნურ გრუნტში გავთესეთ მარსის იმიტირებულ პირობებში გადარჩენილი მიკროორგანიზმების ყველა სახეობა – სულ 12 შტამი. თითოეული შტამის შეტანა მოხდა დაახლ. 10^4 უჯ/მლ/0.2 ოდენობით და 6 პარალელად. აქედან 1 განთავსდებოდა პეტრის ჯამებზე, ხოლო 5 – ნახშირორჟანგით სავსე ჰერმერტულ სინჯარებში. ზრდის სტატისტიკური ანალიზისთვის ვიყენებდით მობილურ აპლიკაციას "Cell culture", "Origin 6.0." და "MS Excel 2007" .

საკონტროლო მოდელის აღწერა მოცემულია ლიტერატურაში [(VAN IMPE et al., 2005), 80]; სიგმოიდური მრუდების აღწერისათვის შემოთავაზებულია მათემატიკური ფუნქციები, საიდანაც ცვალებად გარემო პირობებში ინტეგრირებული მიკრობული კოლონიების ზრდის სტატისტიკური ანალიზისათვის შემოთავაზებულია დიფერენციალური განტოლებების სისტემა. აქედან ერთი სისტემა აღწერს მიკრობულ ევოლუციას და გამოისახება როგორც:

$$\frac{dN(t)}{dt} = \mu(N) \cdot (N)t \qquad (16)$$

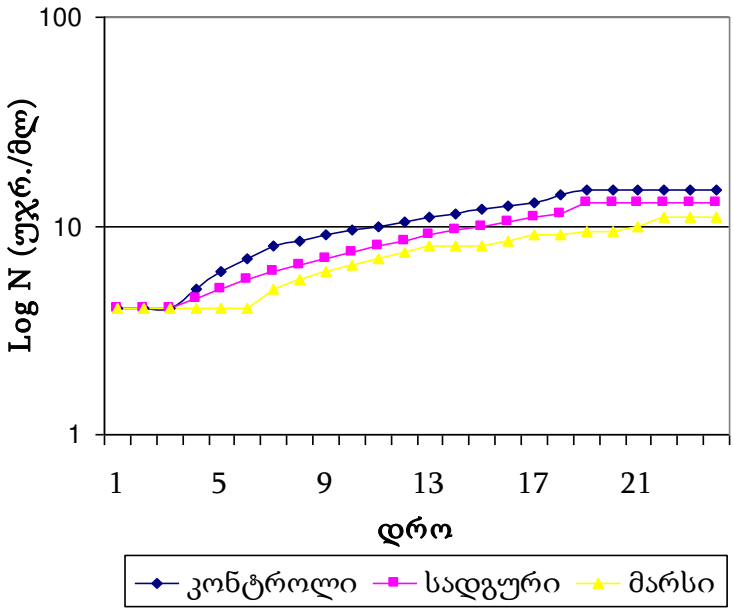
სადაც N(t) არის უჯრედული სიმკვრივე და μ(N) ზრდის სპეციფიკური სიჩქარე. მეორე დიფერენციალური განტოლება აღწერს ზრდის სპეციფიკური სიჩქარის გამოკიდებულებას უჯრედულ სიმკვრივეზე და პოპულაციის კლების ფაქტორს წარმოადგენს.

$$\frac{d\mu(N)}{dN} = -\alpha N^m \qquad (17)$$

სადაც α დადებითი პარამეტრია დამოკიდებულია მხოლოდ გარემოსეულ ცვლადებზე და არა მიკროორგანიზმის სახეობაზე. ამასთან m პარამეტრი დამოკიდებულია მიკროორგანიზმის სახეობაზე და არა გარემოსეულ ცვლადებზე. შესაბამისად, საწყისი პარამეტრებისთვის გვექნება სისტემა მდგრად მდგომარეობაში $N(0) = N_0$ (18) და $\mu(N_0) = \mu_0$ (19).

საკონტროლო მოდელურ სიმულაციაში (დედამიწის პირობებში) მიღებულია, რომ იცვლება მხოლოდ m და α პარამეტრები, ხოლო დანარჩენი ორი (საკვები არე და ექსტინქციის სპექტრული მაქსიმუმი) – უცვლელია: Nf, არ არის დამოკიდებული m–ზე. ეს პარამეტრი გავლენას ახდენს მხოლოდ ექსპონენციალური ფაზის ხანგრძლივობაზე. გასაგებია, რომ m პარამეტრის დიდი რიცხვი ექსპონენციალური (ზრდის) ფაზის ხანგრძლივობას ამცირებს. ჩვენს შემთხვევაში – $1X10^8$ უჯ/მლ (მაკ–ფარლანდით n<0.1). (დიაგრამა 11.3).

დიაგრამა 11.3. მოცემულია მოდელური სიგმოიდური ლოგარითმული მრუდები 1. კონტროლის (დედამიწის ლაბორატორია) და ორი განსხვავებული გარემოსეული პარამეტრისათვის (2. მარსის სადგური და 3. მარსი). პროგრამული სიდიდეები: 1. m=1, =0.0067; 2. m=0, ==0.0333; 3. m=-1, ==0.1443; შემოღებული სიდიდეები: No=2, =o=0.2. გამოთვლილია პეტრის ჯამზე განთავსებული მიკროორგანიზმების საშუალო რაოდენობის მიხედვით 24 კვირის განმავლობაში.

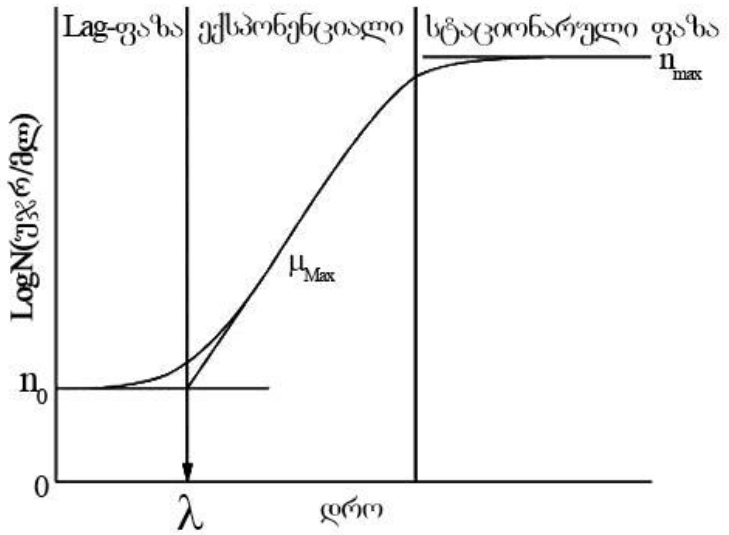


მონაცემები შევიტანეთ კომპიუტერული პროგრამის “Origin 6.0” გამოყენებით და განვსაზღრავდით ზრდის/ექსტინქციის მაქსიმუმს μmax თითოეული

სახეობისთვის. Lag ფაზის ხანგრძლივობა განისაზღვრებოდა პოპულაციის გაორმაგების მეთოდით [81], დიაგრამა. 11.4.

”ხელოვნურ მარსზე” გვაქვს დინამიკურად ცვლადი გარემო პარამეტრები: ტემპერატურა და გამოსხივების ინტენსიობა, რის გამოც გამოვიყენეთ განტოლება (3) და α პარამეტრში შევიტანეთ ტემპერატურაზე ზრდის ინტენსივობის დამოკიდებულება კვადრატულ ფესვში [82]; მივიჩნევთ, რომ α პარამეტი გარემოს პარამეტრებზეა დამოკიდებული. ვინაიდან ტემპერატურა არის გამოსხივების ფუნქცია, ეს უკანასკნელი ცალკე სიდიდედ არ იქნა შემოღებული.

დიაგრამა 11.4. tlag გამოითვლება, როგორც საშუალო ზრდის მრუდის ექსპონენციალურ სიდიდესა და დათესილ სიდიდეს შორის [83, 84].



გამოთვლები მიმდინარეობდა შემდეგი სქემის მიხედვით:

1) სპექტრომეტრული ექსპერიმენტული მონაცემები შეგვქონდა კომპიუტერულ პროგრამაში MS Excel 2007 და ვხსნიდით მრუდების ექსტრაპოლაციის პროგრამით Origin 6.0.

2) ზრდის აქსელერაციის პარამეტრი $A = \log N(f) - \log N(0)$, გამოითვლებოდა პროგრამაში Portable Origin 8.0 და მიღებული იყო, როგორ პოპულაციის ლოგარითმული ზრდის მონაცემები.

თავი 12. მარსის იმიტირებული გრუნტის ბიორემედიაცია – მარსის გარდაქმნილ გრუნტში ბაქტერიული მეტაბოლიზმის პროდუქტების და გარდაქმნილი ქიმიური კომპონენტების შემცველობის განსაზღვრა.

ვახდენდით რაოდენობრივ ანალიზს თვისებითი ანუ იონ-სპეციფიკური რეაქციების გამოყენებით [64-70]. გრუნტის თვისებითი ანალიზის დროს, რომ გამოგვერიცხა ქიმიური რეაქციები თვით იმიტირებული გრუნტის ქიმიურ კომპონენტებს შორის, კონტროლის სახით ვამოწმებდით მას სტერილურ მდგომარეობაში.

1. ექსპერიმენტულ არეში ბაქტერიული უჯრედების რაოდენობის განსაზღვრა ხდებოდა ზემოთ აღწერილი მეთოდების გამოყენებით;

2. ბიორემედიაციის შედეგად ხდებოდა უხსნადი კომპონენტების ხსნადად გარდაქმნა, რომლის გარდაქმნის დინამიკასაც განვსაზღვრავდით ტიტრირების გზით;

3. სინჯის აღება ხდებოდა ყოველი ერთი კვირის შემდეგ. განვსაზღვრავდით როგორც ბაქტერიული უჯრედების რაოდენობას, ასევე მათ ზრდას, აქტიურობას და შესაბამისად, გრუნტის ქიმიური შედგენილობის ცვლილებას.

ანალიზის მიზნით 10 მგ გრუნტს ვათავსებდით გამოხდილ წყალში და ვავსებდით 100 მლ-მდე. გაფილტვრის შემდეგ განვსაზღვრავდით გახსნილ ნივთიერებებს. ტიტრატის ნიმუშში ნივთიერების კონცენტრაციის განსაზღვრა ხდებოდა ფორმულით [67]:

$$C_a = \frac{C_t \times V_t \times M}{V_a} \quad (20)$$

სადაც: Ca - ნიმუშის კონცენტრაცია (მოლარობა)

Ct - ტიტრატის კონცენტრაცია (მოლარობა)

Vt - ტიტრატის მოცულობა (L)

M - მოლური სხვაობა ქიმიური რეაქციიდან (ბალანსირებული)

Va - ნიმუშის მოცულობა (L)

მარსის ხელოვნურ გრუნტში ნიტრატების და ფოსფატების დაგროვების ანალიზს ვახდენდით Vernier-ის სელექტური ელექტროდებით; დაგროვების დინამიკა განისაზღვრებოდა 100 მლ წყალხსნარში ნივთიერების რაოდენობის ზრდით ან კლებით მგ–ში [68].

შაქრების, ცხიმების და ცილების შემცველობას ვამოწმებდით კლასიკური ბიოქიმიური ტესტებით [65, 70]. განვსაზღვავდით ბაქტერიული ბიომასის (ცილები, ცხიმები, ნახშირწყლები) დაგროვების დინამიკას, რა დროსაც ხდებოდა მარსის სტერილური გრუნტის შთანთქმის მაქსიმუმის (700 ნმ) გამოკლება ფილტრით და შედარება სპექტრულ მონაცემებთან ფილტრის გარეშე [66, 71, 75], ვზომავდით 2 ნმ ბიჯით, განისაზღვრებოდა სტოქიომეტრული წერტილი [78].

ტიტრირებამდე და ტიტრირების შემდეგ ხსნადი ნაერთების მოცემული ფორმულით განსაზღვრულ კონცენტრაციებს ვამოწმებდით სპექტროფოტომეტრიით, რისთვისაც ვიყენებდით სტანდარტული ხსნარების ოპტიკურ სიმკვრივეებს (D=f(C), რაც ე.წ. “დამაბინძურებელი აგენტების” (მრავალკომპონენტიანი გრუნტი) გამორიცხვის საშუალებას იძლეოდა. შთანთქმას განვსაზღვრავდით 10 მმ კიუვეტებში ფორმულით:

$$A = -\log(I/I_o); \quad (21)$$

სადაც I არის ნიმუშიდან გამოსული სინათლის ინტესივობა, ხოლო Io – საწყისი ინტესივობა.

სპექტროფოტომეტრის ოპტიკური სიმკვრივეა OD = AL; სადაც, L არის ნიმუშის სისქე. მარსის ბიორემედირებული გრუნტის ხსნადი კომპონენტების სტანდარტული ხსნარების შთანთქმის მაქსიმუმები და ოპტიკური სიმკვრივეები მოცემულია შედეგებში.

თავი 13. აზოტფიქსატორი ბაქტერიების მიერ ავტოტროფულ საკვებ არეში ნიტრატების დაგროვების განსაზღვრა ნესლერის და სპექტროფოტომეტრული მეთოდით

ნიტრიფიკატორი ბაქტერიების მიერ წარმოქმნილი ამონიუმის მარილების და ნიტრიტების გამოვლენა მარტივად შესაძლებელია 5%-იან მარილმჟავაში კულტურიანი სილიკაგელის ნაწილის ჩაშვებით. დადებითი რეაქციის შემთხვევაში საკვები არე გალურჯდება (ნესლერი). ასევე შეიძლება NO_2^- და NO_3^- რაოდენობის განსაზღვრა სპექტროსკოპული მეთოდით 460 ნმ–ზე [79].

აზოტფიქსატორი ბაქტერიების მიერ ამონიუმის მარილების, ნიტრატებისა და ნიტრიტების დაგროვებას ვამოწმებდით მარტივი სპექტროფოტომეტრული მეთოდით; გამოიყენებოდა შემდეგი პროტოკოლი:

1. 5 მლ ნიმუშს ვუმატებდით 0,1 მლ HCl–ს (1M ხსნარი) და 5–ჯერ ბრუნით ვანჯღრევდით;
2. 1 მლ ხსნარი გადაგვქონდა კვარცის მიკრო–კიუვეტში (0,5 მმ);
3. სპექტროფოტომეტრს (Spectronic 20, Milton Roy Comp.) ვანულებდით 220 ნმ–ზე დისტილატის გამოყენებით;
4. ვზომავდით ნიმუშის შთანთქმის ინტენსივობას 220 ნმ–ზე (NO_3^- და ორგანული მასალა);
5. სპექტროფოტომეტრს (Spectronic 20, Milton Roy Comp.) ვანულებდით 275 ნმ–ზე; .
6. ვზომავდით ნიმუშის შთანთქმის ინტენსივობას 275 ნმ–ზე (ორგანული მასალა);

მეთოდი დაწვრილებითაა აღწერილი ინტერნეტ–პუბლიკაციაში [85].

თავი 14. ნაშრომის არსებული პროტოტიპები და ექსპერიმენტული ნორმები, შედეგების საიმედოობა

ამგვარად, ნაშრომის პროტოტიპად აღებული იყო:

1. არსებული მარსის კამერები [34-59] – ყველა ამ კამერაში ბიოლოგიური ექსპერიმენტებისთვის გამოყენებულია დისკრეტული ულტრაიისფერი გამოსხივება (180–480 ნმ), რომელიც რეალურად არ არის მარსზე; მარსზე გვაქვს მზის ელექტრომაგნიტური გამოსხივების სრული სპექტრი (180–2400 ნმ) ცნობილია, რომ ხილული სპექტრის უბანში გამოსხივების სპექტრის სხვადასხვა სიგრძის ტალღები ხელს უწყობს ანტიოქსიდანტური თვისებების მქონე ბიოლოგიური ნივთიერებების სინთეზს, შესაბამისად, დისკრეტული ულტრაიისფერი ტალღების გამოყენებას ბიოლოგიურ ექსპერიმენტებში მივყავართ მცდარ შედეგებამდე, განსაკუთრებით – ოპტიკური ბიოქიმიური ადაპტაციის კვლევის მიმართულებით, დისერტაციაში მარსზე შემომავალი ელექტრომაგნიტური გამოსხივების იმიტაცია მოიცავს ყველა აუცილებელ უბანს და ანალოგიურ ინტენსიობას, ცირკადული (დღე-ღამური) ცვალებადობის ჩათვლით.

განათების სპექტრული შედგენილობის იმიტაცია განხორციელდა ორი ტიპის 400-ვატიანი ნათურის მეშვეობით: DRT-400 და DRE-400. სურათი 15.1. გვიჩვენებს კამერა “ხელოვნურ მარსში” გამოსხივების დღე–ღამური ინტენსიობის ცვალებადობას; სურათი 15.2 კი გვიჩვენებს, თუ როგორ არის უზრუნველყოფილი მარსის კამერაში გამოსხივების, ტენიანობის და ტემპერატურის დღე-ღამური ცვალებადობა დამხმარე კომპიუტერის მიერ, ჩვენს მიერ დამუშავებულ პროგრამაზე დაყრდნობით. გაზომვები მიმდინარეობდა ლუქსმეტრით და სელენოექსპონომეტრით (იხ. მასალა და მეთოდები): ცნობილია, რომ მარსს თითქმის არ გააჩნია მაგნიტოსფერო, რაც, დედამიწისაგან განსხვავებით, ვერ უზრუნველყოფს პლანეტის ზედაპირის დაცვას ზოგიერთი სახის ელექტრომაგნიტური გამოსხივებისაგან. ამ მხრივ, უნდა აღინიშნოს, რომ მარსის კამერაში იმიტირებული გამოსხივების წყაროები საკვლევი ნიმუშებისაგან მხოლოდ 45-100 სანტიმეტრითაა დაშორებული, რაც იმას

ნიშნავს, რომ ასეთ მცირე მანძილებიდან დედამიწის ელექტრომაგნიტური ველი გამოსხივების შეკავებაზე არანაირ გავლენას არ იქონიებს, რაც ადასტურებს ჩვენს მიერ მიღებული შედეგების საიმედოობას.

2. მარსის გრუნტი და მისი დახასიათება; დასახელებულ ლიტერატურაში [51-59]

მარსის გრუნტის იმიტაცია განვახორციელეთ ლენდერების “Viking” და “Pathfinder” და მარს–ორბიტერის – “Mars Global Surveyor” და როვერების: «Spirit” და “Oportunity”–ს მონაცემებზე დაყრდნობით. უნდა აღინიშნოს, რომ ჯერ კიდევ 2007 წელს ჩვენს მიერ გამოთქმული იყო ვარაუდი, რომ მარსზე არის ცეოლითი (სურ. 16.2), რაც 2008 წელს დაადასტურა “Phoenix”–ლენდერმა [57-58]. ძეგვისა და თეძამის ცეოლითების ქიმიური შედგენილობა მოცემულია ლიტერატურაში [86].

არეკვლითი სპექტროფოტომეტრიის ფოტოკამერის (HySpex VNIR-1024) და პროგრამის (Hyperspectral Imaging) [87] გამოყენებით ჩვენს მიერ მარსის ზედაპირის გამოსახულებებიდან განსაზღვრული იქნა შესაძლო ქანები და ნივთიერებები და შეჯერდა ზემოჩამოთვლილი ხელსაწყოების მიერ გადმოცემულ მონაცემებთან. ვარაუდების გათვალისწინებით, განსაზღვრული იქნა მარსის გრუნტში სხვა მინერალების, თავისუფალი ოქსიდების და ზოგიერთი სხვა ნაერთის არსებობა (სურათი 16.1. – 16.3) საბოლოო ჯამში, ჩვენს მიერ იმიტირებული მარსის გრუნტის მინერალური შედგენილობა მოცემულია ცხრილში 16.1. (იხ. შედეგები) და დანართი 3.

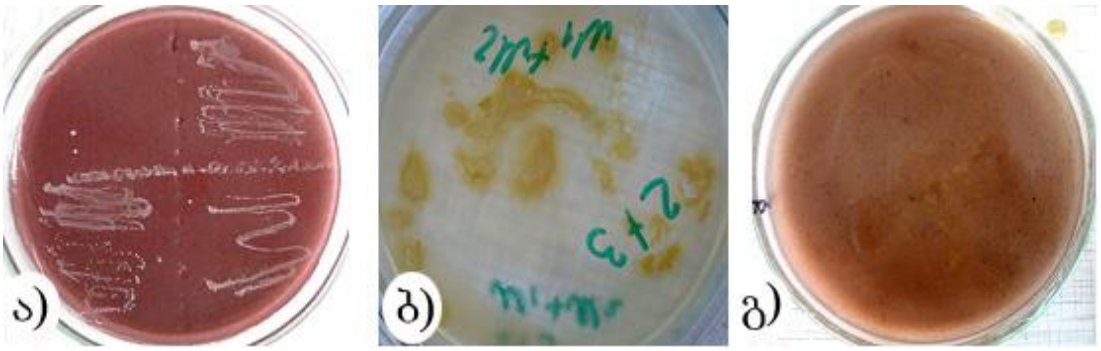
3. ყამირი მიწებისა და ჩამდინარე სამრეწველო წყლების ბიორემედიაცია [88];

როგორც უკვე აღინიშნა, კვლევის ერთ–ერთი ამოცანა იყო პლანეტა მარსის გრუნტის ბიორემედიაციული პოტენციალის შესწავლა 1. პლანეტის ეკოპოესის შესაძლებლობის განსაზღვრის მიზნით; 2. მარსის სადგურებზე სასოფლო–სამეურნეო საქმიანობისათვის მარსის გრუნტის გარდაქმნის მიზნით. შესაბამისად, ჩვენს მიერ იმიტირებულ გრუნტში მიკრობების ზრდას ვაკვირდებოდით: 1. კონტროლზე (ლაბორატორიულ პირობებში, 20ºC, მზის სინათლეზე); 2. მარსის სადგურის იმიტირებულ პირობებში (წნევა 101 კპა, CO_2–

ს კონცენტრაცია 480პპმ ფარგლებში, შენარჩუნებულია გამოსხივება); 3. პლანეტა მარსის იმიტირებულ პირობებში (“ხელოვნური მარსი”; CO_2–ის კამერა წნევით 16 კპა); მოცემული მრუდები გვიჩვენებს მიკროორგანიზმების ზრდის დინამიკას ზემოჩამოთვლილ პირობებში (სურ. 18.1, 21.3, 23.1).

როგორც აღმოჩნდა, ავტოტროფულ ნიადაგზე (სილიკაგელი) და მასის იმიტირებულ გრუნტში ბაქტერიები არ წარმოქმნიდნენ კლასიკურ კოლონიებს. სურათი 14.1 გვიჩვენებს რკინა–ბაქტერიების (*Thiobacillus ferroxidans* და *Gallionella*) (ა) კოლონიას კლასიკურ ჰეტეროტროფულ ნიადაგზე, (ბ) სუფთა სილიკაგელზე და (გ) მარსის გრუნტზე.

სურ. 14.1. რკინა–ბაქტერიების (*Thiobacillus ferroxidans* და *Gallionella*) (ა) კოლონიას კლასიკურ ჰეტეროტროფულ ნიადაგზე, (ბ) სუფთა სილიკაგელზე და (გ) მარსის გრუნტზე.



როგორც ვხედავთ, კლასიკურ ნიადაგზე რკინაბაქტერიები იზრდება კოლონიებად და შესაძლებელია თვლის კლასიკური მეთოდოლოგიის გამოყენება (ა). რაც შეეხება სილიკაგელისა (ბ) და მარსის გრუნტის კოლონიებს (გ), აქ ბაქტერიების გავრცელება ხდება ამორფული მასების სახით, რომელიც, მეტაბოლიზმის პროდუქტებთან ერთად, გრადუალურად ავსებს საკვებ არეს. სილიკაგელის უფერო ნიადაგზე ჯერ კიდევ შესაძლებელია მიკროსკოპულად მიკროორგანიზმების ორგანიზმების დათვლა [75-77], მაგრამ იმიტირებული მარსის გრუნტის კომპონენტები ვიზუალურად სრულიად გადაფარავს ნებისმიერ მიკროორგანიზმს, რაც შეუძლებელს ხდის ამ მეთოდების გამოყენებას. უნდა აღინიშნოს, რომ ფლუორესცენციის მეთოდის გამოყენებაც

სრულიად გამოუსადეგარია, რადგანაც მარსის გრუნტის შემადგენელი ქიმიური ელემენტები თვითონაც ინტენსიურად ფლუორესცირებენ, მათ შორის სხვადასხვა კომპონენტი სწორედ იმ უბნებში, რომლებშიც კლასიკური მეთოდებით ხდება ორგანიკის დაფიქსირება [79, 80]. სავარაუდოდ, სწორედ ამით აიხსნება დღეისათვის მარსზე მიკრობების არსებობის დაფიქსირების სირთულე, კომპლექსური ულტრათანამედროვე აპარატების არსებობის მიუხედავად.

შესაბამისად, ვიყენებდით სერიული განზავებისა და მაკ–ფარლანდის შეჯერებულ მეთოდოლოგიას, რომელიც აღწერილია ზემოთ. ცდების თანმიმდევრობა მოცემულია სურათზე 14.2.

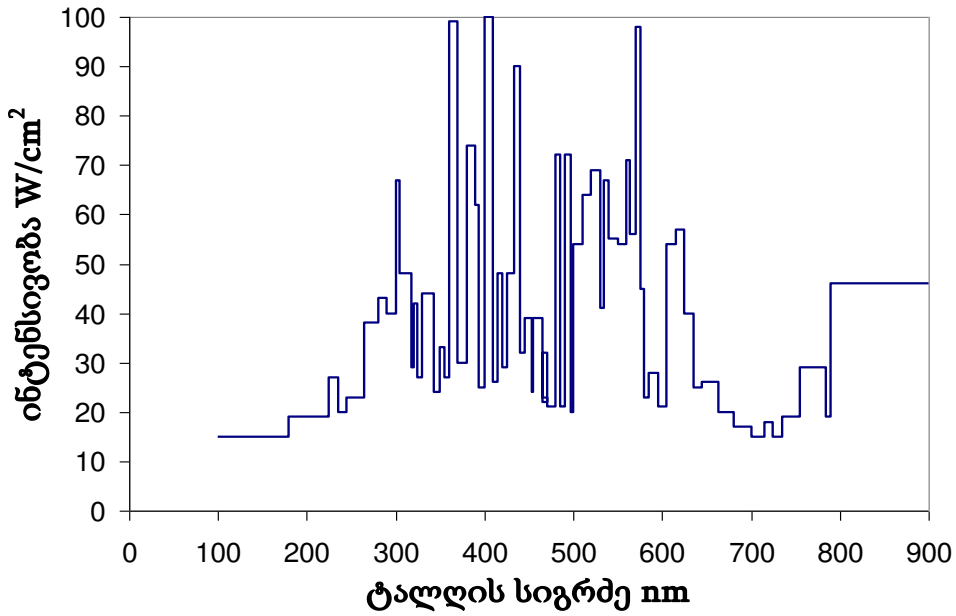
სურ. 14.2. სერიული განზავებისა და მაკ–ფარლანდის შეჯერებული მეთოდოლოგია პლანეტა მარსის იმიტირებულ პირობებში ავტოტროფული მიკროორგანიზმების ზრდის თავისებურებათა განსაზღვრისათვის.

ნაწილი III. მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

თავი 15. პლანეტა მარსზე არსებული გარემოს ფიზიკური პარამეტრების იმიტაცია

პლანეტა მარსზე არსებული გარემოს ფიზიკური პარამეტრების იმიტაციის მიზნით განხორციელდა მზის ელექტრომაგნიტური გამოსხივების სპექტრული და დღე-ღამური ინტენსივობის პარამეტრების იმიტაცია "ხელოვნურ მარსზე". დიაგრამა 15.1. გვიჩვენებს "ხელოვნურ მარსში" იმიტირებული გამოსხივების სპექტრულ პარამეტრებს.

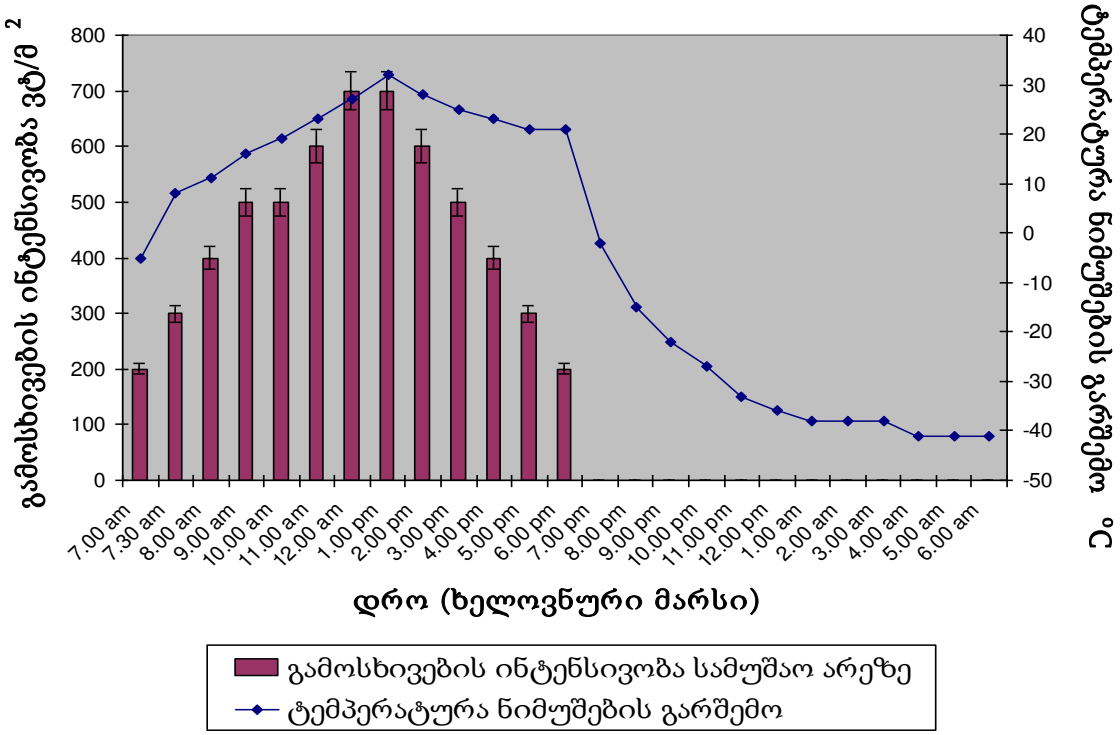
დიაგრამა 15.1. "ხელოვნურ მარსში" შექმნილი, მარსის ზედაპირზე არსებული გამოსხივების სპექტრული პარამეტრები. ტალღის სიგრძე 120-1200ნმ დიაპაზონში, ინტენსივობა - 400-700 ვტ/სმ2. გამოყენებულია ნათურები: DRT-400 და DRE-400 და ლუქსმეტრი: "Ю–116".



"ხელოვნურ მარსზე" იმიტირებული მზის ხელოვნური გამოსხივების სპექტრული შედგენილობა და ინტენსივობა მაქსიმალურად ახლოსაა პლანეტა მარსის ეკვატორიულ ზედაპირზე არსებული განათებულობის პარამეტრებთან, რასაც ბიოლოგიური კვლევებისათვის უდიდესი მნიშვნელობა აქვს. გამოსხივების მახასიათებლები 24 საათის განმავლობაში მარსის ანალოგიურად

იცვლება, რისთვისაც ნათურების რაოდენობით რეგულირდება როგორც მზის ჩასვლა-ამოსვლისა და შუადღის პლანეტური რიტმები, ასევე - ტემპერატურა (დიაგრამა 15.2).

დიაგრამა 15.2. "ხელოვნური მარსში" იმიტირებული განათებულობის ინტენსივობისა და ტემპერატურის ცვალებადობა თანხვედრაშია პლანეტა მარსის ზედაპირზე არსებული მზის განათებულობის ინტენსივობის დღეღამურ ცვალებადობასთან.



აღსანიშნავია, რომ მარსის სიმულაციურ პირობებში ხშირად სათანადო ყურადღება არ ეთმობა ცირკადული რითმებისა და გამოსხივების სპექტრული შედგენილობის სიზუსტეს. მაგალითისთვის, უმეტეს შემთხვევაში გამოყენებულია ვერცხლისწყლის ან ქსენონის ნათურები, რომლებიც დისკრეტულად გამოასხივებენ სპექტრის ულტრაიისფერ უბანში, დღე-ღამური პერიოდულობით 12/12. ამგვარად, საქმე გვაქვს აბიოტურ სტრესულ ფაქტორთან, რომელიც სულაც არ არის პლანეტა მარსზე რეალურად არსებულის ანალოგიური. კერძოდ, ცნობილია, რომ დისკრეტული ულტრაიისფერი

განათებულობა მოკლეტალღოვან უბანში ბაქტერიციდული თვისებების მატარებელია. ასეთ პირობებში მიკროორგანიზმებზე ჩატარებული ცდები ცრუ-უარყოფით შედეგს იძლევა, მაშინ, როდესაც ფოტობიოლოგიური კვლევებიდან ცნობილია, რომ ხილული და შორეული წითელი გრძელტალღოვანი გამოსხივების თანაობა მიკროორგანიზმებში დნმ და უჯრედული ორგანელების რეპარაციის ფუნქციებს ააქტიურებს, რის შედეგადაც ექსტრემალური ორგანიზმების დიდი ნაწილი მარსის პირობებში სიცოცხლისუნარიანი უნდა იყოს.

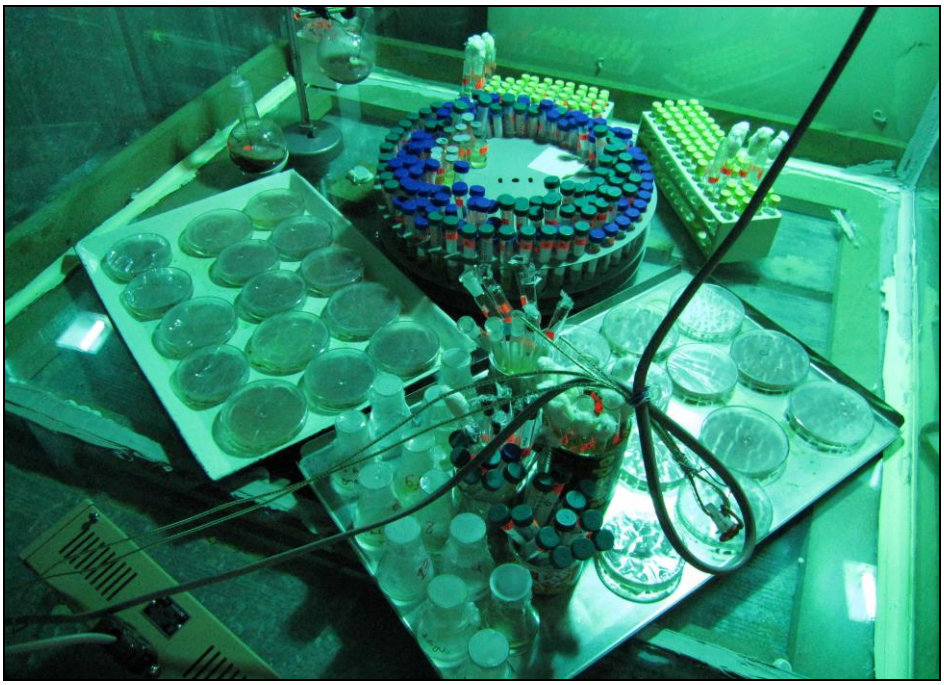
გარდა ამისა, წითელ პლანეტაზე 12-საათიანი ინტენსიური 700-ვატიანი განათებულობა, რაც მარსის ზოგიერთ საიმიტაციო კამერაში გამოიყენება, მზის ე.წ. ექსტრემალური აქტიურობის პირობებშიც კი არ არსებობს, არამედ ყოველ საათში თანდათანობით ცვალებადობს, და ამგვარად, პლანეტებზე არსებული ცოცხალი ორგანიზმების ფუნქციურ აპარატს ცირკადული ადაპტაციური მექანიზმების გამოყენების საშუალებას აძლევს.

კამერაში ატმოსფეროს ქიმიური შედგენილობა და წნევა რეგულირდება ნახშირორჟანგის ბალონის, მშრალი ყინულისა და ტუმბოს მეშვეობით; თუმცა მარსის რეალური ატმოსფერო იმაზე მეტად გაუხშოებულია, ვიდრე ამის იმიტაციაა შესაძლებელი. შესაბამისად, ბიოლოგიური ექსპერიმენტების საიმედოობის და სიზუსტის გაზრდის მიზნით, ნიმუშები პერიოდულად განთავსდებოდა ვაკუუმ-კამერაში (ThermoScientific CO_2 vacuum-chamber HERACELL VIOS, აშშ), სადაც უზრუნველყოფილი იყო ტემპერატურა –80°C დან –180°C -მდე და 99000 ppm CO_2-ის ატმოსფერო წნევით 4826 Pa. თვით ”ხელოვნურ მარსზე” მიიღწეოდა ბარომეტრული წნევა 30 000–40 000 Pa ფარგლებში, ეკვატორული ტემპერატურული ზღვრებით –80°C დან +30°C-მდე, რაც სრულ შესაბამისობაშია მომავალში მარსის სადგურის სათბურის პირობებთან (სურათი 15.3.).

”ხელოვნური მარსის” პირობებში შეუძლებელია მარსისეული გრავიტაციის იმიტაცია, თუმცა კამერის ზომები და პარამეტრები მასში კლინოსტატის განთავსების საშუალებას იძლევა, რაც მნიშვნელოვანია იმ თვალსაზრისით, რომ

საერთაშორისო კოსმოსურ სადგურზე ჩატარებული უახლესი კვლევების მიხედვით, დადგენილია მიკრობებზე გრავიტაციის, როგორც ერთ-ერთი მუტაგენური ფაქტორის, გავლენა.

სურ. 15.3. კამერაში "ხელოვნური მარსი" უზრუნველყოფილი იყო ტემპერატურისა და ატმოსფერული პარამეტრების ცვალებადობა CO_2-ის ბალონების, მაცივარ-დანადგარისა და მშრალი ყინულის მეშვეობით. ადაპტირებული ნიმუშები მარსის ხელოვნურ გრუნტში განთავსდებოდა.

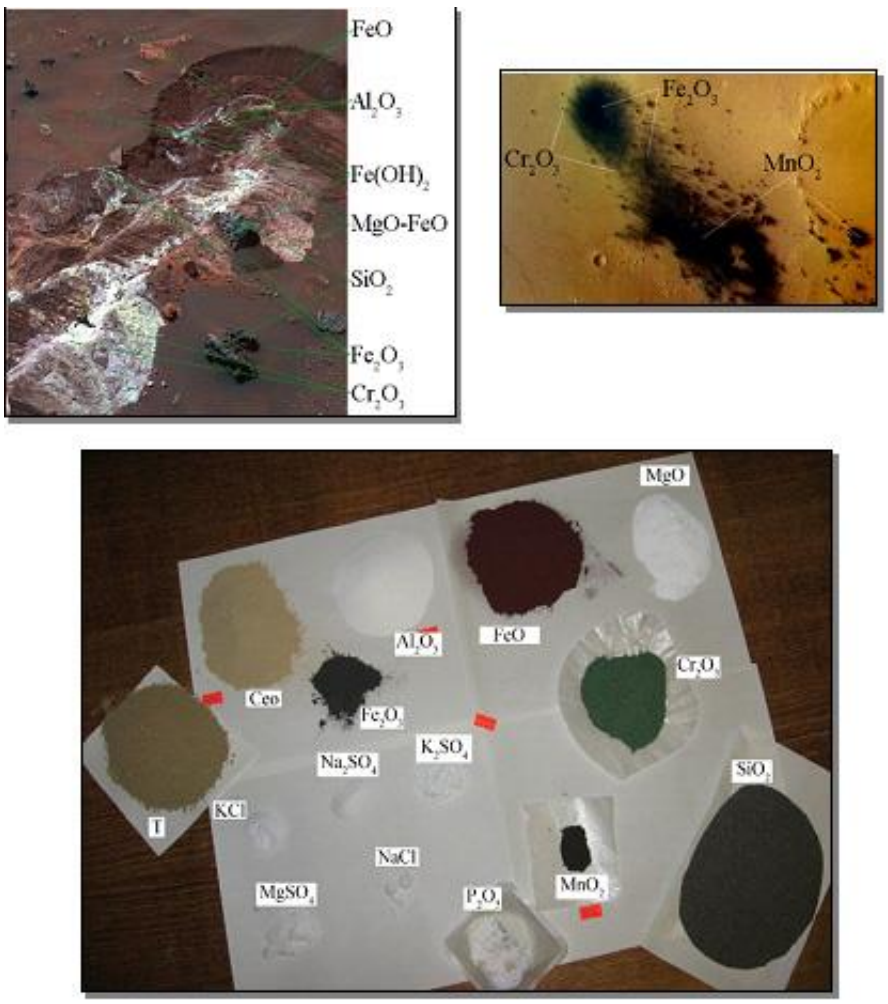


ცნობილია, რომ მარსზე არ არსებობს ერთიანი ელექტრო-მაგნიტური ველი და ოზონის შრე, რაც დედამიწაზე ცოცხალ ორგანიზმებს ულტრაიისფერი და იონიზებული რადიაციისაგან დაიცავს. "ხელოვნურ მარსზე" საკვლევი ნიმუშები გამოსხივების ხელოვნური წყაროდან მხოლოდ 0,5 – 1, 5 მეტრის დაშორებით განთავსდება, რისი მეშვეობითაც უზრუნველყოფილია ზემოაღნიშნული აბიოტური პარამეტრების მაქსიმალურად ზუსტი სიმულაცია.

თავი 16. მარსის ხელოვნური გრუნტი, როგორც ბუნებრივი გრუნტის ანალოგი

არეკვლითი სპექტროფოტომეტრიის კამერის (HySpex-1024) და პროგრამის (Hyperspectral Imaging) გამოყენებით, სურათებიდან სპექტრულად განსაზღვრული იქნა მარსის გრუნტში არსებული შესაძლო ქანები და ნივთიერებები. ვივარაუდეთ მინერალების, თავისუფალი ოქსიდების და ზოგიერთი სხვა ნაერთის არსებობა (სურათი 16.1.).

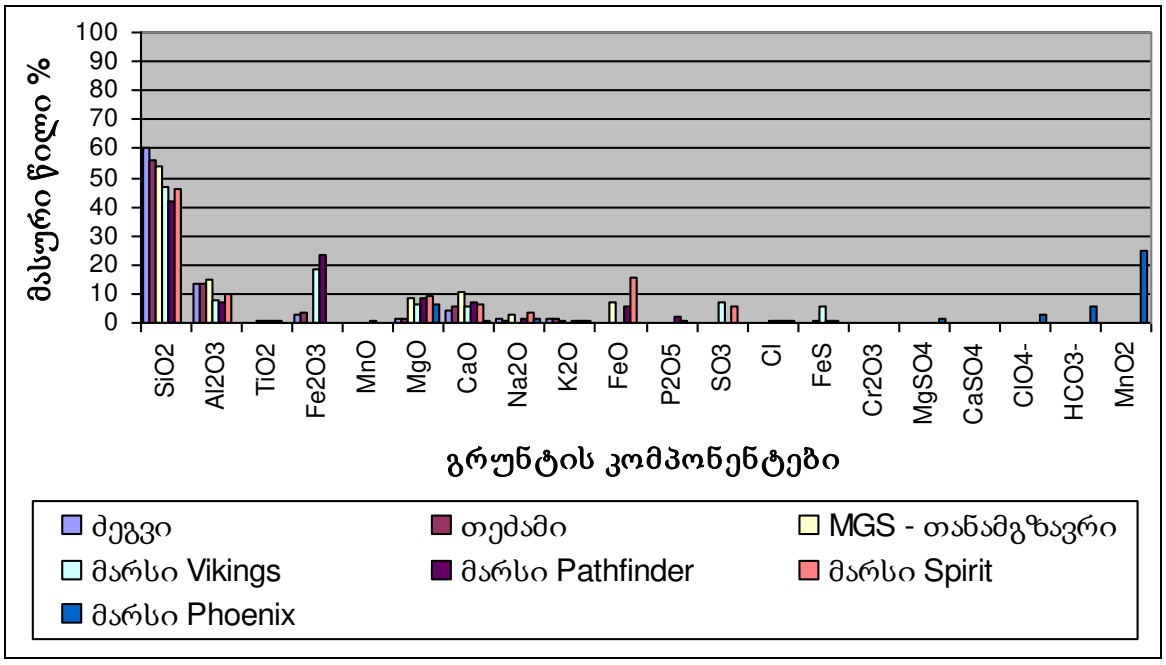
სურ. 16.1. არეკვლითი სპექტროფოტომეტრიის კამერის (HySpex-1024) და პროგრამის (Hyperspectral Imaging)-ით განსაზღვრული არსებული ქანები, მინერალები, თავისუფალი ოქსიდები და ზოგიერთი სხვა ნაერთი.



ეს მატრიცული მინერალები შეირჩა მარსის იმიტირებული გრუნტისათვის. მარსის გრუნტის იმიტაციისთვის გამოყენებული იყო ძეგვისა და თემამის ცეოლითები, მარსის გრუნტთან მსგავსების გამო (სურათი 16.2). ურეკის სანაპიროებიდან აღებულია მაგნეტიტი (SiO2), დაემატა მინერალები, ოქსიდები და მარილები (Sigma).

გამოთქმულია ვარაუდები, რომ მარსზე შესაძლებელია მცენარეული საფარის განვითარება. მას შემდეგ, რაც შევისწავლეთ აღნიშნული საკითხი, კერძოდ, გრუნტის ქიმიური შემადგენლობა, და დავამზადეთ გრუნტის ხელოვნური ანალოგი (სურათი 16.1 და დიაგრამა 16.2) ოპტიმისტურ პროგნოზებში ეჭვი შევიტანეთ.

დიაგრამა 16.2. ცეოლითებისა და მარსის რეალური გრუნტის ქიმიურ შედგენილობათა შედარება.



უპირველეს ყოვლისა, მარსის გრუნტში წარმოდგენილია მინერალები, რომლებიც გამოირჩევიან შემკვრელი, ე.წ. "მახრჩობელა" თვისებებით: ცეოლითი, თიხა, კაოლინიტი, მონთმორილონიტი და კირქვა, რაც ძალზე უარყოფითად მოქმედებს თესლებსა და ფესვთა სისტემაზე (ცხრილი 16.1). რაც შეეხება გრუნტის შემადგენლობაში შემავალ სხვა კომპონენტებს (სურათი 16.1, 16.2, 16.3), ისინი აგრეთვე გამოირჩევიან მცენარეებზე "უარყოფითი"

ზემოქმედებით. კერძოდ, თითქმის ყველა წარმოდგენილი ოქსიდი (FeO, Fe_2O_3, Cr_2O_3, MnO, MnO_2, Al_2O_3, MgO) უხსნადია წყალში და, შესაბამისად, არ ხდება მათი შეთვისება მცენარეების მიერ. სულფატებს (Na_2SO_4, K_2SO_4, $FeSO_4$) და ქლორიდებს (NaCl, KCl, $CaCl_2$), განსაკუთრებით კი ფოსფორის ოქსიდს (P_2O_5) ჰიდროფილური თვისების გამო აქვთ ნესტის წატაცების უნარი, ანუ, შეუძლიათ თესლისა და მცენარეული ორგანოების დეჰიდრატაცია, რასაც მოსდევს პლაზმოლიზი.

ჩამოთვლილი კომპონენტები გრუნტის სრული ქიმიური სპექტრის მხოლოდ 50% შეადგენს, 50% კი ნეიტრალური სილიკატებია, აქედან გრუნტის მთელი შემადგენლობის 45% - ძალზედ წვრილმარცვლოვანი კვარცული ქვიშა. ჩამოთვლილი ნივთიერებებისაგან განსხვავებით, სილიკატები გამოირჩევიან "გამშლელი" თვისებებით, რაც ერთგვარი კომპენსაციის სახით გამოვლინდება მარსის იმიტირებულ (ასევე, სავარაუდოდ, "ნამდვილ") გრუნტში. მაგალითისათვის, დედამიწაზე თიხნარ ნიადაში გარკვეული რაოდენობით სილის დამატება ამგვარ ნიადაგებზე სასოფლო-სამეურნეო სამუშაოს წარმოების საშუალებას იძლევა. მაგრამ ამ შემთხვევაში საქმე გვაქვს მცენარისთვის ათვისებადი, წყალში ხსნადი მინერალების მწვავე დეფიციტთან, კერძოდ, მარსის გრუნტში პრაქტიკულად არ არსებობს ამონიუმის მარილები და ნიტრატები. იმიტირებული მარსის გრუნტის მინერალური შედგენილობა მოცემულია ცხრილში 16.1.

მნიშვნელოვანია, რომ მარსის ხელოვნურ თუ ბუნებრივ გრუნტში ცეოლითების არსებობას შეუძლია მნიშვნელოვნად შეცვალოს მისი ბიოგენური პარამეტრები; კერძოდ, ცეოლითის კრისტალებში წვეთების სახით აკუმულირდება ატმოსფერული წყალი, რომელიც დაბალი წნევის პირობებში მარსის ზედაპირზე მუდმივად სუბლიმაცია-დეპოზიციის ციკლშია და თხევადი სახით არ მოიპოვება; ცეოლითში მარსის გაიშვიათებული ატმოსფეროდან აკუმულირდება აგრეთვე ისეთი აირები, როგორიცაა CO_2 და ძალიან მცირე რაოდენობით არსებული O_2, O_3 და N_2, რაც უმნიშვნელოვანესია ავტოტროფული მექანიზმებით ბაქტერიების მეტაბოლიზმის მიმდინარეობისთვის.

ცხრილი 16.1. მარსის იმიტირებული გრუნტის მინერალური შედგენილობა და მისი შედარება მარსზე არსებული რეალური გრუნტის შედგენილობასთან (ელემენტური მასური წილი %).ოქსიდების, როგორც მინერალების ეროზიული პროდუქტების შემცველობა, მარსის იმიტირებულ გრუნტში. ჰიდროლოგიური წარმოშობის გრუნტის იმიტაციის შემთხვევაში, ემატება Na, K ქლორიდები, რკინის სულფიდი FeS, სულფატები, სულფიტები, სხვა ჰიდროლოგიური მასალა და პერქლორატები.

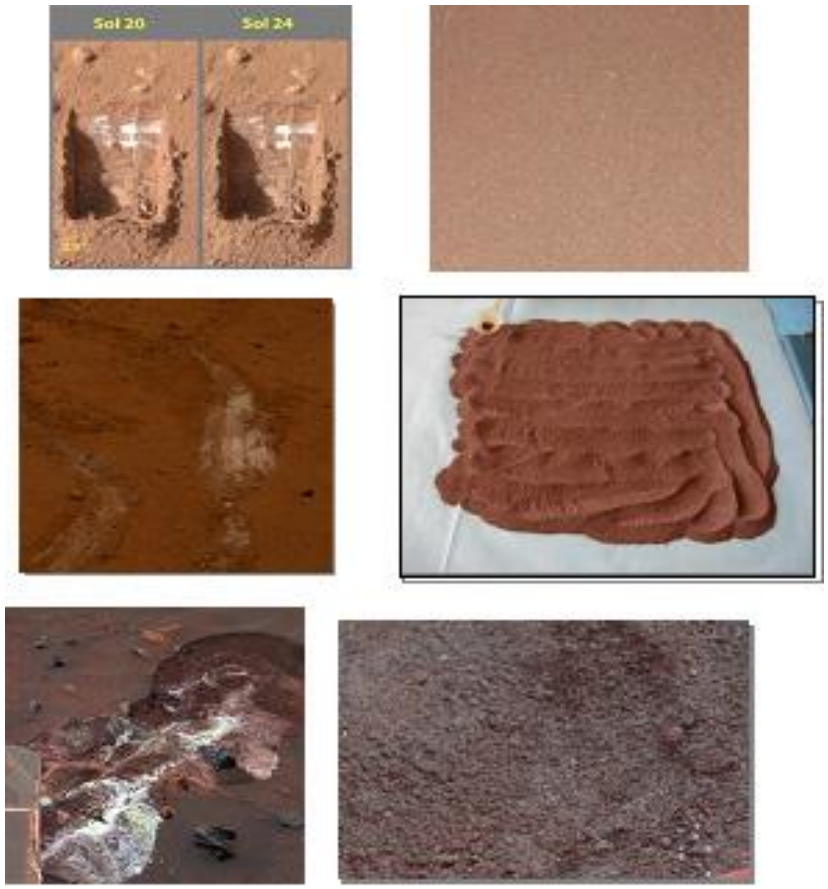
მინერალები (1000 მგ)	ელემენტ. %)	მასური % (მგ)	ოქსიდები (1000 მგ)	მარის ხელოვნური გრუნტი	მარსის ბუნებრივი გრუნტი
1. ცეოლითი (K_2O, Na_2O,	14	140	1. SiO_2	45	44
CaO, Ai_2O_3, MgO)			2. Ai_2O_3	9	9
2. მაგნეტიტი (SiO_2)	45	450	3. FeO	15	15
3. FeO	15	150	4. Fe_2O_3	7,5	10
4. MgO	10	100	5. MgO	12	11
5. Fe_2O_3	7,5	75	6. MnO	0,4	0,4
6. Ai_2O_3	7	70	7. Na_2O	3	2
7. MnO	0,4	4	8. K_2O	0,4	0,3
7. P_2O_5	0,6	6	9. CaO	5	4,3
8. Clay (წითელი	0,5	5	10. P_2O_5	0,8	1
კაოლინიტი) (CaO,			11. TiO_2	1	1,4
Ai_2O_3, MgO, TiO_2, Cr_2O_3)			12.Cr_2O_3	0,9	1,6

დედამიწაზე არსებული დეპოზიტებისგან განსხვავებით, მარსზე არსებული ცეოლითი და გრუნტის სხვა კომპონენტები ძალზე წვრილმარცვლოვანი კონგლომერატებია და მათი ზომა 0,5-დან 1,3 მკმ-მდე მერყეობს; აქედან გამომდინარე, გრუნტის ჰიგროსკოპული თვისებები ნაკლებია, თუმცა, როგორც ექსპერიმენტებით დავადგინეთ, გაუხშოებული ატმოსფეროდან

მიკროორგანიზმების განვითარებისათვის საჭირო რაოდენობის წყლის აბსორბციისათვის სრულიად საკმარისია.

მარსზე ცეოლითის დეპოზიტები განსაკუთრებულად დიდი რაოდენობით მოიპოვება ლოკაციებზე, სადაც უკანასკნელი მონაცემებით, წარსულში ჰიდროლოგიური პროცესები მიმდინარეობდა, სახელდობრ - ჰიდროკრიოვულკანური აქტიურობები; აქედან გამომდინარე, მარსზე ავტონომიური ლაბორატორიებით ცეოლითური ლოკაციების კვლევა საინტერესო შედეგებს მოგვცემს: შესაძლებელია მოვიპოვოთ მონაცემები, წარსულში მარსზე მიკროორგანიზმების არსებობის შესახებ, და აგრეთვე, გამოვიკვლიოთ არასტერილური აპარატებით მარსის ტრანს-პლანეტარული დაბინძურების შანსები.

სურ. 16.3. მარსის იმიტაციური გრუნტის ორი ვარიანტის კონსისტენციისა და ფერის ვიზუალური შედარება მარსის გრუნტთან (Phoenix-ის მონაცემები, TrueColor ციფრული ფოტომასალა).



თავი 17. საქართველოს ექსტრემალური ეკოსისტემებიდან მოპოვებული მიკროორგანიზმების ადაპტაცია “ხელოვნურ მარსზე” არსებული გარემო პირობებისადმი და მათი ბიოქიმიური აქტიურობა

მარსის გრუნტის ბიორემედიაციის მიზნით შესწავლილი იყო საქართველოში გავრცელებული მიკროორგანიზმები, რომლებიც მოპოვებული იქნა რკინისა და გოგირდის წყლებში, კლდეების ჩამონადენებში და სხვადასხვა კლდოვან ქანებში (რკინა, სილიკო და გოგირდბაქტერიები); ასევე, მაღალმთიანი რეგიონების ფერო–ქანებში და მანგანუმის საბადოებში. მიზნობრივად, განცალკევებით იქნა შესწავლილი ციანობაქტერიები, როგორც ფოტოსინთეზის მწარმოებელი ავტოტროფები და ზოგიერთი სოკო, რომლებიც ბუნებრივად განვითარდა მარსის იმიტირებულ გრუნტში. წინასწარი მონაცემებით, ციანობაქტერიების, რკინაბაქტერიების და სილიკო და გოგირდბაქტერიების თანაობისას, მოხდა ბიომინერალური კომპლექსების წარმოქმნა გორგლების სახით, რომელთა ზრდა ინტენსიურად მიმდინარეობდა დროში (სურათი. 17.1).

გრუნტში მიკრობული გორგლების წარმოქმნა ცნობილია და უკავშირდება იქ არსებული მიკროორგანიზმების უნარს, შექმნან მულტი-სახეობრივი, დახურული ეკოსისტემები ანუ კუმულაციური ბიომასა, სადაც ხდება მიკროკლიმატის და ნივთიერებათა კომლექსური მიმოცვლის უზრუნველყოფა.

ამ მხრივ, უაღრესად საინტერესოა პლანეტა მარსიდან მიღებული ზოგიერთი მონაცემი, კერძოდ, მარსზე არსებული მსგავსი წარმონაქმნების შეფასების მიხედვით, რაც მარსმავალ “Curiosity”-ს მიერ იქნა დაფიქსირებული, გამოითქვა მოსაზრება მათი ადრეული ბაქტერიული წარმოშობის შესახებ (სურათი 17.2.).

ე.წ. “ბიოლოგიური გორგლების” შედგენილობამ მარსის ხელოვნურ გრუნტთან შეგუებული ავტოტროფული ორგანიზმების ფართო სპექტრი წარმოაჩინა. რაც სრულ წარმოდგენას გვაძლევს პერსპექტივაში მარსის გრუნტის მომავალი ბიორემედიაციისა და მარსისეული აგროკულტურის განვითარების შესაძლებლობის შესახებ; როგორც უშუალოდ პლანეტის ზედაპირზე, ისე - სპეციალურად აგებულ. სათბურებში.

სურ. 17.1. ბაქტერიული გორგლების (”ბორცვაკების”) ზრდა მარსის იმიტირებულ გრუნტში (ნაჩვენებია 4 ნიმუში).

საბოლოო ჯამში, მარსისეული “ბორცვაკების” მიკროსკოპული ანალიზის შედეგად დაფიქსირდა შემდეგი სახეობები (ცხრილი 17.1). უნდა აღინიშნოს, რომ აღმოჩენილი სახეობებიდან ბევრი ერთდროულად სხვადასხვა ტიპის ფოტო და ქემო-ლითო-ავტოტროფული მეტაბოლიზმით ხასიათდება. საინტერესოა, რომ პლანეტა მარსზე არსებული მსგავსი წარმონაქმნების ვიზუალური შეფასების მიხედვით, რაც მარსმავალ “Curiosity”-ს მიერ იქნა დაფიქსირებული, გამოითქვა მოსაზრება ამ სტრუქტურების ადრეული ბაქტერიული წარმოშობის შესახებ.

სურ. 17.2. მიკრობული (?) ”ბორცვაკები” პლანეტა მარსის ზედაპირზე

ცხრილი 17.1. მარსის იმიტირებული გრუნტიდან ამოთესილი და იდენტიფიცირებული სახეობებიდან მარსის სადგურის პირობებში იზრდება ყველა ზემოჩამოთვლილი სახეობა. ”ხელოვნური მარსის” პირობებში ადგილი აქვს ბევრი სახეობის ელიმინაციას. კამერა ”ხელოვნური მარსის” პირობებში ზრდადი სახეობები აღნიშნულია ფონით ორგანიზმები იდენტიფიცირებულია გვარის დონეზე.

ციანო-	რკინა-	გოგირდ-	მეწამ.-	აზოტ-	მეთანო-	სილიკო-	სხვა
Anabaena	*Thiobacillus ferroxidans*	*Chromatiaceae*	*Rhodobacter*	*Azotobacter*	*Methanobacterium*	*Silicobater*	*Shewanella oneidensis*
Chroococcidiopsis	*Leptothrix*	*Chromatium Oceanni*	*Rhodopseudomonas*	*Bacillus circulans*	*Methanosarcina mazei*	*Clostridium cellulosii*	*Mychorhyza*
Leptolyngbia	*Gallionella*	*Chlorobium Okeanii,*	*Thiobacillus*	*Beijerinckia,*	*Methanosarcina barkeri*		*Wolinella succinogenes*
Synechococcus	*Calothrix dichotoma*	*Thiodictyon*	*Azospirillum*	*Rhyzobium,*			*Dechloromonas sp*
Gloeocapsa	*Ferribacterium;*	*Spirillum desulfuricans*	*Neiseria*	*Haloferax denitrificans*			*Dechlorospirillum*
Shyzophyta	*Ferrobacterium Ferrooxidans*	*Desulfovibrio*	*Legionella*	*Nitrosomonas*			*Mycobacterium*
Tolypothrix	*Acidithiobacillus ferroxidans*		*Beggiatoa*	*Nitrobacter*			
Nostoc	*Rhodoferax ferrireducens*		*Photobacterium*	*Sinorhyzobium*			

მიკრობული ”ბორცვაკების” ბიოქიმიური ანალიზის შედეგად ირკვევა, რომ ამ წარმონაქმნებში, გრუნტის დისიპაციური უბნებისაგან განსხვავებით, მკვეთრადაა მომატებული (>15-20%) კაპსულარული ლიპოპოლისაქარიდებისა და ექსტრაცელულარული შაქრების კონცენტრაცია. მაშასადამე, სავარაუდოა, რომ ამ ”ბორცვაკების” წარმოქმნა აგლუტინინებისა და ადჰეზინების სინთეზის გაძლიერებას უკავშირდება, რაც იმ ექსტრემალური აბიოტური ფაქტორების (დაბალი ტემპ. და ულტრაიისფერი გამოსხივება) გავლენის შედეგია, რომლებიც მემბრანული ზედაპირების ანოდურ ჟანგვას იწვევენ, რასაც მოსდევს ბაქტერიული უჯრედის ექსტრაცელულარულ ლიპოპოლისაქარიდულ გარსზე რკინის შემცველი თიხა-მინერალების ნაწილაკების ადჰეზია.

შემდეგ ეტაპზე შესწავლ იქნა მარსის გრუნტში ზრდადი მიკროორგანიზმების მეტაბოლიზმი და გამოვლინდა მათ მიერ მარსის სიმულაციური გრუნტის პოტენციური ბიორემედიაციის ბიოქიმიური ასპექტები კონტროლსა (ლაბორატორიული პირობები/მარსის სათბური) და კამერა ”ხელოვნური მარსის” პირობებში (მარსი).

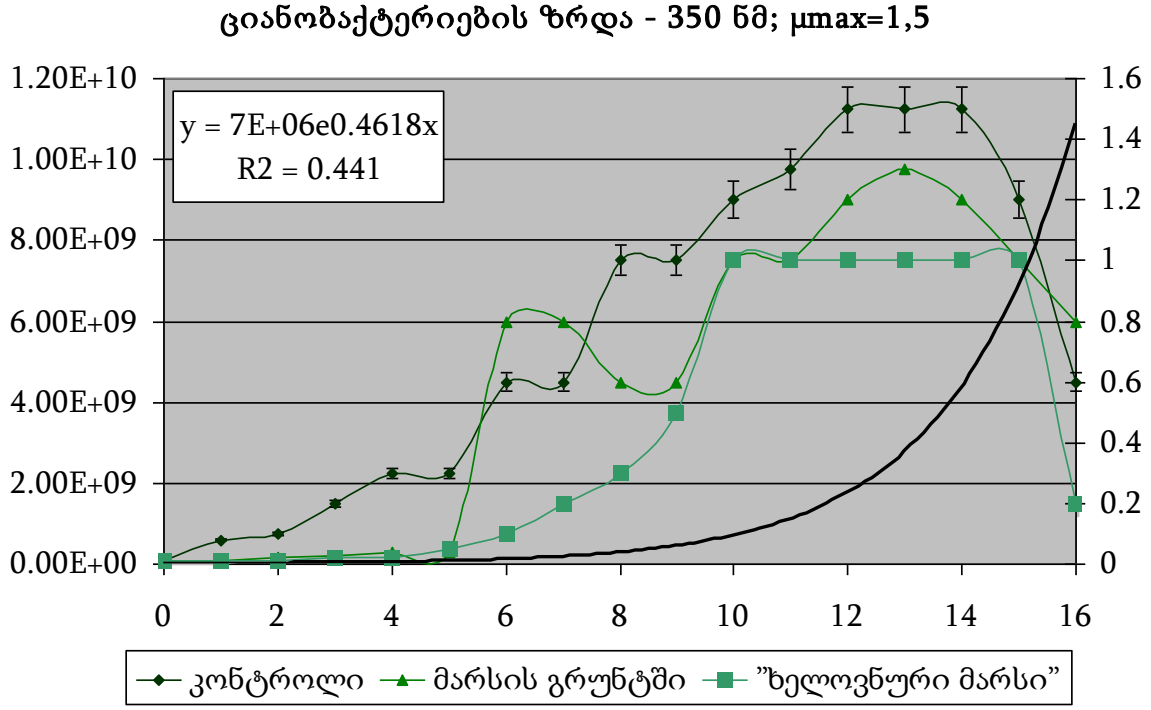
თავი 18. მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია ციანობაქტერიების მიერ

ციანობაქტერიები ფოტოტროფული ორგანიზმებია, შესაბამისად, მცირე ზომის დახშულ სისტემაში მათთვის უჟანგბადო პირობების შექმნა შეუძლებელია - ერთი ფოტონის არსებობის დროსაც კი გარემოში იწყება ფოტოსინთეზი, რასაც მოსდევს დიდი რაოდენობით ჟანგბადის გამოყოფა. შესაბამიასად, ციანობაქტერიული კოლონიების ზრდას ვაკვირდებოდით ”ღია” გარემოში: კამერა ”ხელოვნურ მარსში” ციანობაქტერიები მოთავსებული იყო ღია ჭურჭელში, ხოლო კამერის რეჟიმი უწყვეტად უზრუნველყოფდა გარემოდან ფოტოსინთეზის შედეგად წარმოქმნილი ჟანგბადის ”განიავებას”.

მარსის ხელოვნურ გრუნტში, კონტროლსა და ”ხელოვნურ მარსზე”, ციანობაქტერიების ზრდის დინამიკა ძირითადად მსგავსია (სურათი 18.1),

თუმცა ”ხელოვნური მარსის” პირობებში ხდება გარკვეულ სახეობათა ელიმინაცია, მაგალითად, როგორებიცაა Schysotryx, Shyzophyta, Leptolyngbia და Nostoc; ხოლო ზოგიერთი მათგანი წარმოდგენილია არა ვეგეტაციური, არამედ სპორებისა და ჰეტეროცისტების სახით; მაგალითად, Fischerella და Tolypothrix tenuis.

სურ. 18.1. ციანობაქტერიების ზრდის დინამიკა მარსის ხელოვნურ გრუნტში და კამერა ”ხელოვნური მარსის” პირობებში, 16 თვის განმავლობაში.

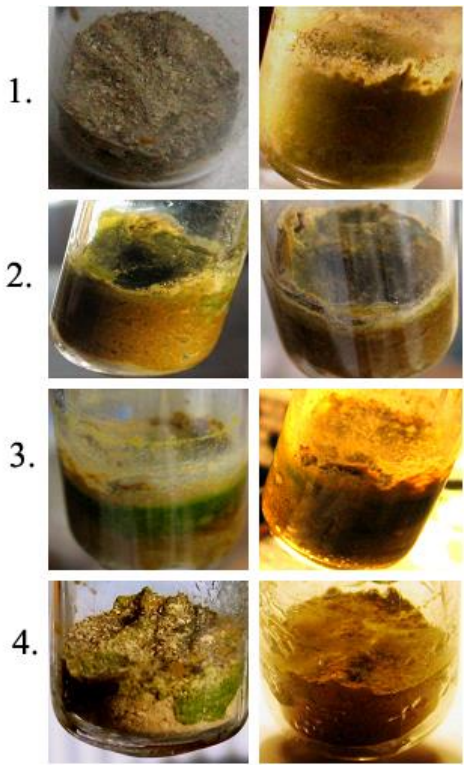


გარდა ამისა, კონტროლში ციანობაქტერიების რაოდენობა ”მარსის სათბურის” პირობებში არსებულს დაახლოებით 100-ჯერ აღემატება, ხოლო ”ხელოვნური მარსის” პირობებთან შედარებით, ციანობაქტერიების რაოდენობა ყოველ სმ3-ში დაახლოებით 10000-ჯერ მეტია.

ციანობაქტერიები მარსის გრუნტში იზრდება ორგვარად: 1. აკუმულირდება გრუნტის ზედა ფენაში ზოლის სახით (დაზოლვა); 2. განიცდის დისიპაციას გრუნტში; 3. გროვდება თხელი ფენის სახით გრუნტის ფსკერზე (სურფაქტაცია) ან 4. გროვდება ოვალური, გაფანტული კოლონიების სახით (კლასტერიზაცია) (სურათი 18.2);

მაშასადამე, ისევე, როგორც ნიადაგში, ციანობაქტერიული კოლონიები ე.წ. ”ვინოგრადსკის სვეტის” ანალოგიურად იზრდება, რაც განპირობებულია მათი შერჩევითი ადაპტაციით მარსის ხელოვნური კლიმატის გარკვეული აბიოტური ფაქტორების მიმართ. ცხრილი 18.1. გვიჩვენებს ციანობაქტერიების სახეობრივ განაწილებას კოლონიებში (ვინოგრადსკის სვეტის ანალოგიურად).

სურ. 18.2. ციანობაქტერიული კოლონიების სხვადასხვა ნიმუში კონტროლსა (პირველი სვეტი) და ”ხელოვნური მარსის” (მეორე სვეტი) პირობებში (ზემოდან ქვემოთ); 1. დისიპაცია; 2. სურფაქტაცია; 3. დაზოლვა; 4. კლასტერიზაცია.

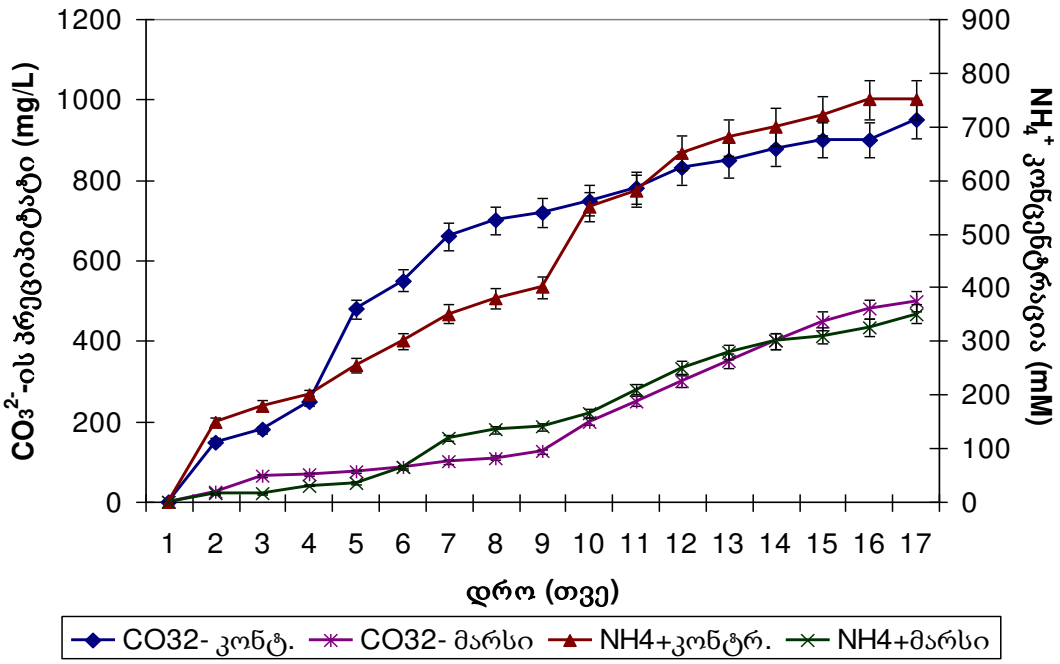


მარსის გრუნტში, როგორც კონტროლში, ასევე - ”ხელოვნური მარსის” პირობებში, ციანობაქტერიების ზრდას, შემდეგ კი - კოლონიების ელიმინაციას უკავშირდება გრუნტში კალციუმის კარბონატის პრეციპიტაცია და ამონიუმის იონების აკუმულაცია. (სურათი 18.3). მარსის ხელოვნური გრუნტის გამოყენებით მიღებულ შედეგებშიც კი დასტურდება წარსულში ციანობაქტერიების მიერ ატმოსფეროდან ნახშირორჟანგის კარბონატებად აკუმულირების პროცესი.

ცხრილი 18.1. ციანობაქტერიების სახეობრივi განაწილება (“ვინოგრადსკის სვეტის” ანალოგიურად).

განაწილება	კონტროლი	”ხელოვნური მარსი”
დისიპაცია	*Choroococcus*	*Chroococcus*
	Chroococcidiopsis	*Chroococcidiopsis*
	Trebouxia	*Trebouxia*
სურფაქტაცია	*Synechococcus*	*Synechococcus*
	Schysotryx	-
	Shyzophyta	-
	Choroococcus	*Choroococcus*
დაზოლვა	*Anabaena*	*Anabaena*
	Tolypothrix tenuis	*Tolypothrix tenuis*
	Nostoc	-
კლასტერიზაცია	*Gloeocapsa*	*Gloeocapsa*
	Arthrospyra	*Arthrospyra*
	Fischerella	*Fischerella (ჰეტეროცისტა)*
	Leptolyngbia	-

სურ.18.3. $CaCO_3$ პრეციპიტაცია და NH_4^+ იონების აკუმულაცია ციანობაქტერიებით მარსის გრუნტში, კონტროლსა და ”ხელოვნური მარსის” პირობებში.



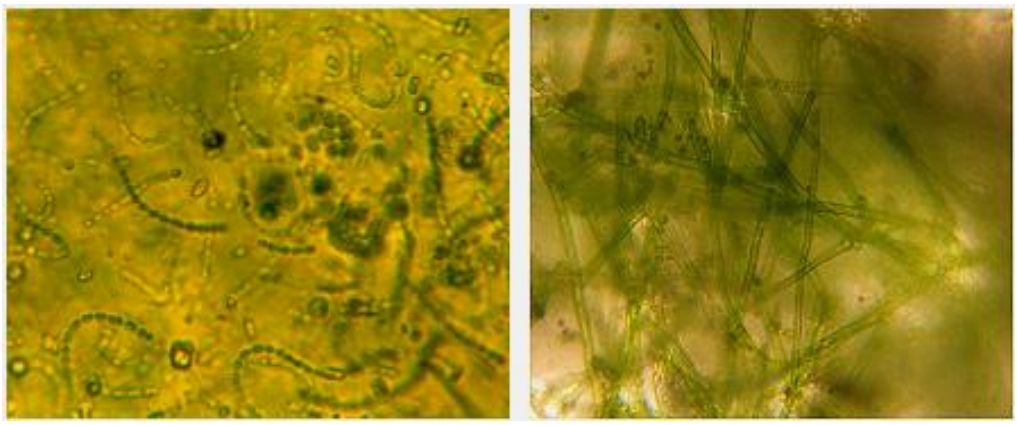
ჩვენს მიერ ჩატარებული ანალ;იზების შედეგად მტკიცდება, კარბონატების დაგროვებისაგან განსხვავებით, რაც სპეციფიკურია ციანობაქტერიებისათვის, მარსის გრუნტში ნიტრატების დაგროვება ბევრი სახეობის მიერ ხდება, როგორც ინდივიდუალურად, ასევე - სიმბიოზში. სახელდობრ, ციანობაქტერიები როგორებიცაა Anabaena და Nostoc-ის გვარის სხვა წარმომადგენლები, აზოტბაქტერია Nitrosomonas და Azotobacter-თან ერთად, აგრეთვე - Clostridium, და Desulfovibrio გოგირბაქტერიებთან ერთად, ანაერობულ პირობებში აწარმოებენ ატმოსფეროდან თავისუფალი N_2-ის ფიქსაციას. რეაქცია მიდის კლასიკური სქემით:

$$4e^- + 0.5N_2 \rightarrow 4H + 8\ ATP$$

$$NH_3 + 0.5H_2 \rightarrow 8ADP + 8Pi$$

გრუნტის უხსნადი კომპონენტების, კერძოდ, ფოსფორის ოქსიდისა და რკინის სულფიდების ხსნად მარილებად გარდაქმნა მოვახერხეთ ციანობაქტერიული შტამების - Tolypothrix tenuis-ისა და Anabaena-ს გამოყენებით (სურათი 18.4, დიაგრამა 18.5).

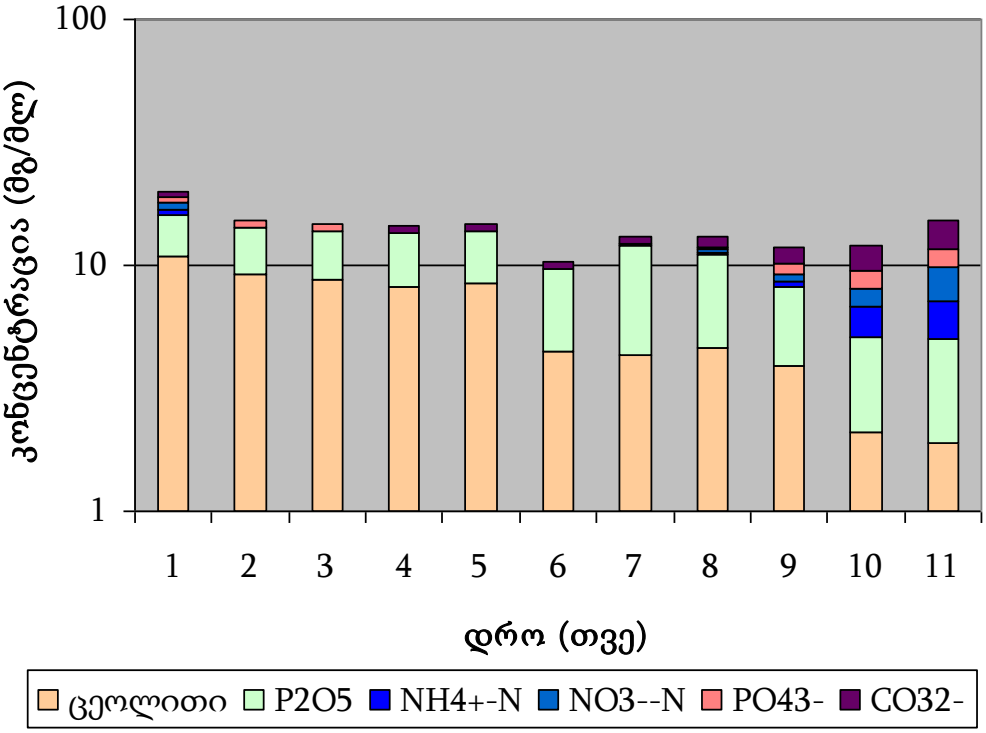
სურ. 18.4. ციანობაქტერიები *Tolypothrix tenuis* და *Anabaena*-ს შტამები მარსის გრუნტიდან



ეს შტამები განსაკუთრებით ეფექტური აღმოჩნდა ქრომის Cr^{3+} ნაერთების მოსაშორებლად, რომელიც დიდი კონცენტრაციითაა წარმოდგენილი მარსის გრუნტში. როგორც აღმოჩნდა, ციანობაქტერიების მიერ ადსორბციის

პროცესების შედეგად, მარსის გრუნტიდან ქრომის მიკრობიოლოგიური იზოლაციის ეფექტურობა იზრდება დასამუშავებელ არეში Fe^{2+} და OH^--ის იონების ურთიერთქმედებით, კერძოდ Fe და Cr ბაქტერიების სიმბიოზით, როგორებიცაა Thiobacillus ferroxidans და Sewanella oneidensis.

დიაგრამა 18.5. ციანობაქტერიების მიერ მარსის ხელოვნური გრუნტის კომპონენტების გარდაქმნა



თავი 19. მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია რკინა-ბაქტერიების მიერ

რკინა-ბაქტერიების მიერ, ჟანგბადის დეფიციტის პირობებში, მარსის გრუნტში რკინა-შემცველი ცეოლითისა და თიხის მინერალების, აგრეთვე სუფთა Fe_2O_3 და FeO კომპონენტების გარდაქმნა ხდებოდა რკინა-აღმდგენი და რკინა-დამჟანგველი ავტოტროფების მეშვეობით. კონტროლსა და ”ხელოვნურ მარსზე” რკინა-ბატერიების სახეობრივი შედგენილობა თითქმის არ განსხვავდება განსხვავდება (ცხ. 17.1), კერძოდ, წარმოდგენილია ფაკულტატური

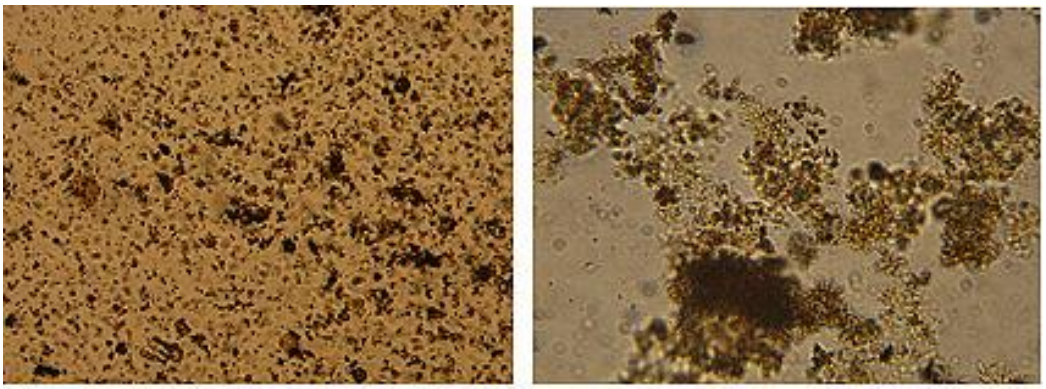
ანაერობი რკინა-ბაქტერიების სრული სპექტრი; როგორც ჩანს 1. მარსის ხელოვნურ ატმოსფეროში ჟანგბადის მცირე შემცველობა ამ სახეობათა ცხოველქმედებისათვის საკმარისია; 2. ულტრაიისფერი გამოსხივების თანაობისას ხდება მეტაბოლური წყლის მოლეკულების ფოტოლიზი, რომლის შედეგიცაა ოზონი და მოლეკულური ჟანგბადი; 3. რკინა-აღმდგენი ბაქტერიების მიერ რკინის (III) ოქსიდის აღდგენა, რისი პროდუქტიცაა თავისუფალი ჟანგბადი:

$$4H_2O + 2Fe_2O_3 \rightarrow 4Fe(OH)_2 + O_2$$

რკინა-ბაქტერიების მიერ მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაციის პირველი ეტაპია მინერალ პირიტის (FeS_2) და FeO-შემცველი მინერალების დაჟანგვა Fe_2O_3 თანაობისას რკინის თიოსულფატამდე, რომელიც ორი სახეობის: *Thiobacillus ferrooxidans* და Gallionella მიერ ხორციელდება (სურათი 19.1):

$$FeS_2 + 6Fe^{3+} + 3H_2O \rightarrow 7Fe^{2+} + S_2O_3^{2+} + 6H^+$$

სურ. 19.1. *Thiobacillus ferrooxidans* და *Gallionella* მარსის ხელოვნური გრუნტიდან

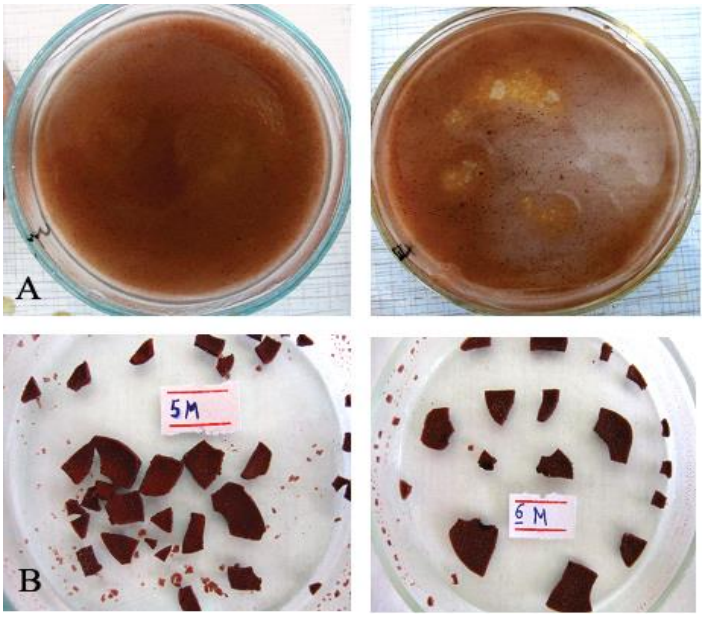


მეტაბოლიზმის საბოლოო პროდუქტებია Fe(OH)2 და FeSO4. კოლოიდური რკინის ჰიდროქსიდი ილექება რკინა-ბაქტერიათა უჯრედების ზედაპირზე. დროთა განმავლობაში ნალექი ჟანგავს წყალს სილიკაგელში, კრისტალდება და მკვრივდება. თანდათან იქმნება ერთიანი მასა, რომელშიც შეუმჩნეველი ხდება ცალკეული უჯრედები. გასამრავლებელ არეზე ჩნდება მოყვითალო ფერის

რკინის ჰიდროქსიდის ნალექი, რომელიც სხვადასხვა სისქის ქერქად იქცევა (სურათი 19.2). ბიორემედიაციის შემდეგ ეტაპზე გამოლექვას იწყებს სუფთა გოგირდი, მანგანუმის ოქსიდის შავი კრისტალები და აღდგენილი რკინის (II) ოქსიდი.

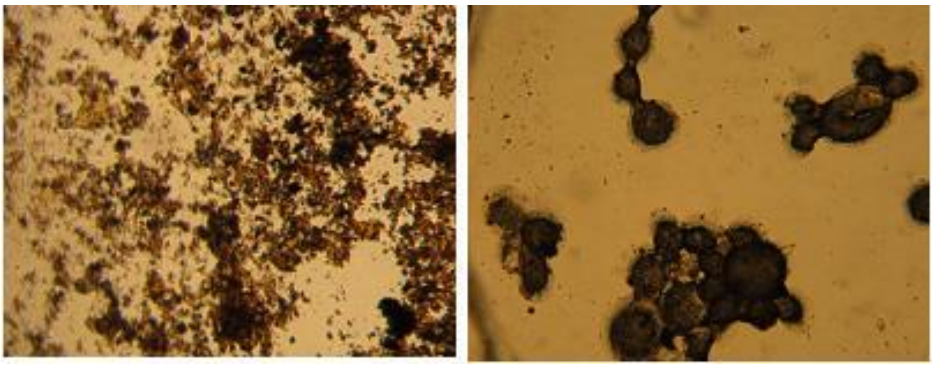
მარსის გრუნტისათვის დამახასიათებელია მძიმე ლითონთა კათიონების მაღალი შემცველობა, განსაკუთრებით კი - ქრომისა და მანგანუმის. როგორც აღმოჩნდა, გრუნტის ამ კომპონენტებს წარმატებით ითვისებს ნიადაგის ბაქტერია Shewanella oneidensis-ის მეტალ-სპეციფიკური შტამები და ციანობაქტერიების სახეობები, როგორებიცაა Tolypothrix tenuis და Anabaena.

სურ. 19.2. მარსის გრუნტის ნიმუში რკინა-ბაქტერიებით ინოკულაციიდან 1 და 3 თვის შემდეგ: კონტროლში (A) და "ხელოვნურ მარსზე" (B). მოჩანს მოყვითალო ფერის რკინის ჰიდროქსიდის ბაქტერიული ნალექი მარსის გრუნტში და სამვალენტიანი რკინის ოქსიდის გრანულები. მარსის გრუნტის კომპონენტების უმეტესობა ხსნად ფორმაშია გადაყვანილი (გამჭვირვალე საკვები არე - A და კრისტალები - B); შავი – აღდგენილი რკინის (II) ოქსიდი (სახეობები), ყვითელი Fe(OH)2 – Thiobacillus Ferooxidans, Gallionella; მანგანუმი – Shewanella oneidensis. "ხელოვნური მარსის" პირობებში სილიკაგელის მთლიანობა დაღვეულია დაბალი წნევის და დეციკაციის გამო.



გარდა ზემოჩამოთვლილისა, რკინა ბაქტერიებიდან ჩვენს მიერ გამოვლენილი იქნა Leptothrix ochracea და Calothrix dichotoma-ს სახეობები (სურათი 19.3 ა) და ბ)). მარსის იმიტირებულ გრუნტში ეს ბაქტერიები ინტენსიურად მრავლდება და მას ჟანგის ფერს აძლევს, რკინის ბაქტერიები ჟანგავენ უამრავ რკინის ქვეჟანგს და საჭიროებენ ჟანგბადის გაძლიერებულ მიწოდებას, ამიტომაა, რომ ინტენსიურად სახლდებიან მწვანე მცენარეებზე, რომლებიც სინათლეზე ჟანგბადს გამოყოფენ. ჩვენს შემთხვევაში, ნიმუშს ვუმატებდით ციანობაქტერიებისა და მწვანე წყალმცენარეების სახეობებს ჟანგბადის წყაროს შესავსებად. Leptothrix ochracea და Calothrix dichotoma-ს სახეობების მარსის გრუნტთან რეაგირების შედეგად წარმოიქმნება ნახშირბად (IV)-ის ოქსიდი, რაც, თავის მხრივ, ხელს უწყობს კარბონატების სინთეზს, რაც მარსის გრუნტში პრაქტიკულად არ მოიპოვება, მაგრამ აუცილებელია ცოცხალი ორგანიზმებისათვის.

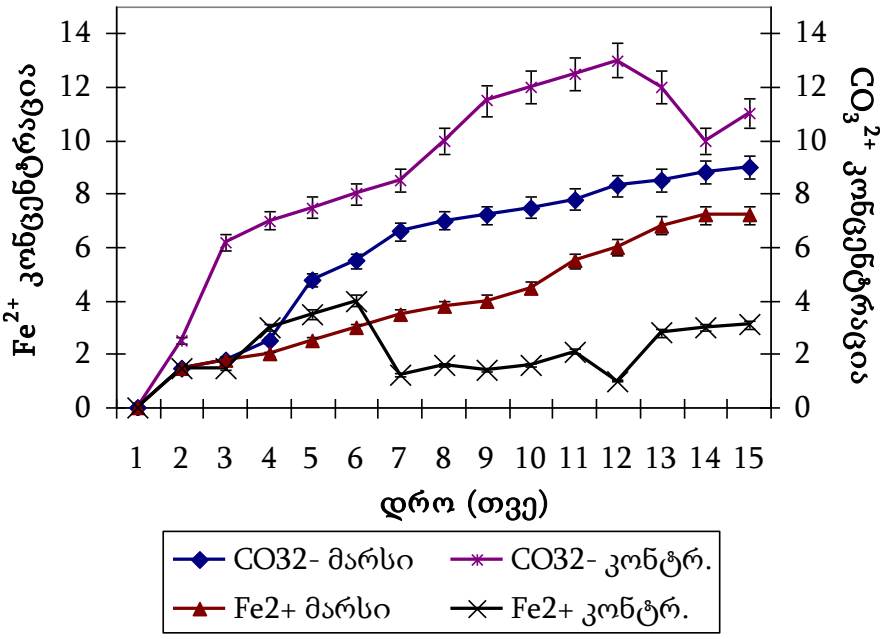
სურ. 19.3. (ა) Leptothrix ochracea და (ბ) Calothrix dichotoma -ს შტამები



როგორც ჩანს ეს სახეობები მარსის გრუნტის ბიორემედიაციის განსახორციელებლად უმნიშვნელოვანეს კომპონენტებად უნდა მივიჩნიოთ. ქიმიური ანალიზის შედეგად გამოვავლინეთ, რომ მეტაბოლიზმის ძირითადი პროდუქტებია $FeCO_3$, $MgCO_3$ და $MnCO_3$ (სურათი 19.4). ბიორემედიაციის ამ ეტაპზე უმნიშვნელოვანი როლი აკისრია რკინა-აღმდგენ ბაქტერიას: Shewanella oneidensis-ს. როგორც სურათიდან ჩანს, ხსნად ფრაქციაში კარბონატ-იონების დაგროვება კავშირშია რკინის იონების აკუმულაციასთან, რაც მიუთითებს, რომ გარკვეული ორგანიზმების მიერ პირიტი და რკინის 2- და 3-ვალენტიანი ოქსიდები გადაიყვანება რკინის კარბონატში; თუმცა, მიღებული მონაცემები

ასევე გვიჩვენებს, რომ რკინის უხსნადი ნაერთების დიდი ნაწილი გარდაიქმნება არა კარბონატად, არამედ 2-ვალენტიანი რკინის ჰიდროქსიდად და სულფატად.

სურ. 19.4. რკინის იონების აკუმულაცია ხსნადი მარილების სახით და კარბონატ-იონების კონცენტრაციის თანმდევი მატება მარსის ხელოვნურ გრუნტში, კონტროლისა და "ხელოვნური მარსი"-ს პირობებში.



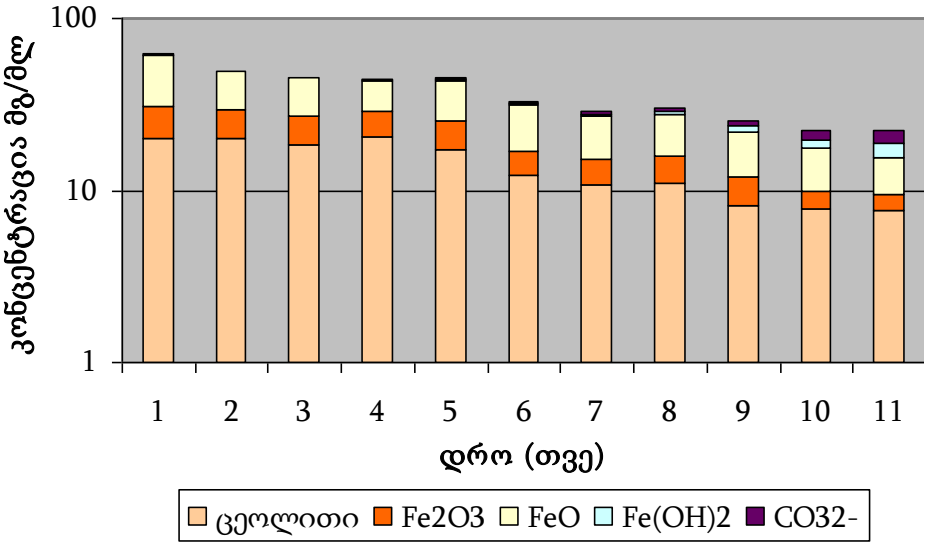
როგორც სურათიდან ჩანს, ხსნად ფრაქციაში კარბონატ-იონების დაგროვება კავშირშია რკინის იონების აკუმულაციასთან, რაც მიუთითებს, რომ გარკვეული ორგანიზმების მიერ პირიტი და რკინის 2- და 3-ვალენტიანი ოქსიდები გადაიყვანება რკინის კარბონატში; თუმცა, მიღებული მონაცემები ასევე გვიჩვენებს, რომ რკინის უხსნადი ნაერთების დიდი ნაწილი გარდაიქმნება არა კარბონატად, არამედ 2-ვალენტიანი რკინის ჰიდროქსიდად და სულფატად.

რკინაბაქტერიების მიერ, "ხელოვნური მარსის" პირობებში, მარსის გრუნტის კომპონენტების გარდაქმნის სრული სურათი მოცემულია დიაგრამაზე 19.5.

საინტერესოა, რომ კონტროლში რკინის იონების ხსნად ფორმაში გადასვლა მიმდინარეობს ნახტომისებურად, რაც მიგვითითებს, რომ კოლონიებში რკინაბაქტერიების გარკვეული სახეობები, (სავარაუდოდ: Thiobacillus ferroxidans, Leptothrix, Ferribacterium, Ferrobacterium Ferrooxidans, Rhodoferax ferrireducens და Gallionella) დრო და დრო მოიხმარენ დაგროვებულ კარბონატებს.

რაც შეეხება ”ხელოვნური მარსის” პირობებში არსებულ კოლონიებს, აქ, როგორც ჩანს, წარმატებით მრავლდება ექსტრემალური ლითოტროფული სახეობები (Ferribacterium, Ferrobacterium Ferrooxidans და Rhodoferax ferrireducens) რომლებიც უპირატესობას ანიჭებენ ავტოტროფულ მეტაბოლიზმს.

დიაგრამა 19.5. რკინაბაქტერიების მიერ მარსის ხელოვნური გრუნტის კომპონენტების გარდაქმნა ”ხელოვნური მარსის” პირობებში



აქედან, Thiobacillus ferroxidans აწარმოებს მარსის გრუნტის რამდენიმე კომპონენტის ავტოტროფულ გარდაქმნას:

$$2FeS + 2H_2O + 7O_2 \rightarrow 2FeSO_4 + 2H_2SO_4$$

$$4FeSO_4 + O_2 + 2H_2SO_4 \rightarrow 2Fe_2(SO_4)_3 + 2H_2O$$

ნიადაგის ბაქტერია Shewanella oneidensis გარემოში S^{2-} თანაობისას აწარმოებს Fe^{3+}, Cu^{2+}, Cr^{6+} და Mn^{4+} აღდგენას ქანებიდან, რის შედეგადაც გრუნტში ხდება თავისუფალი გოგირდის კრისტალების აკუმულაცია:

$$S^{2-} + 2Fe^{3+} (Cu^{2+}, Cr^{6+}, Mn^{4+}) \rightarrow 2S^0 + 2\ Fe^{2+} + 2H^+$$

გოგირდის აკუმულაცია უკავშირდება მარსის გრუნტში გოგირდ-ბაქტერიების ცხოველქმედებასაც.

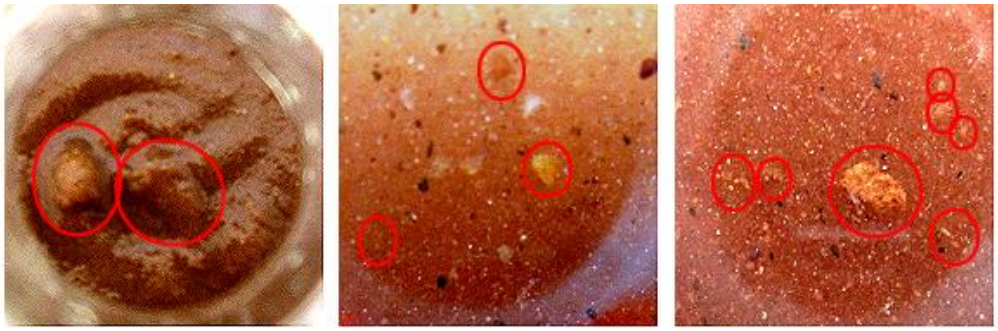
თავი 20. მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია გოგირდ-ბაქტერიების მიერ

გოგირდბაქტერიები ყოველთვის გვხვდება იქ, სადაც გამოიყოფა გოგირდწყალბადი (გოგირდოვან წყლებში, ზღვებსა და ნიადაგში). მათი უმეტესობა ფაკულტატური ანაერობია. მარსის ხელოვნურ გრუნტში წარმოდგენილია Spirillum desulfuricans, Sporovibrio desulfuricans და სხვა (ცხრილი 17.1). desulfuricans-ის გვარის წარმომადგენელი ბაქტერიები არიან პოლიექსტრემოფილები, რომლებიც უძლებენ გარემოს მრავალფეროვან სტრესულ აბიოტურ ფაქტორებს, რაც ჩვენი შედეგებითაც დასტურდება.

ეს ორგანიზმები გადარჩებიან "ხელოვნური მარსის" პირობებში; როგორც აერობულ, ასევე - აერობულ პირობებში ანაერობულ პირობებში იწვევენ რკინის კოროზიას, გადაჰყავთ ის გოგირდოვან რკინაში, რის შედეგადაც გროვდება გოგირდწყალბადი.

როგორც უკვე აღინიშნა, Shewanella oneidensis თავისუფალი სახით აღადგენს გოგირდს, თუმცა მისი არარსებობის პირობებშიც, ზოგიერთი გოგირდ-ბაქტერიის, კერძოდ, Beggiatoa და Thiothrix მეტაბოლიზმის შედეგად მარსის ხელოვნურ გრუნტში თავისუფალი გოგირდის კლასტერები გროვდება (სურათი 20.1. და 20.2).

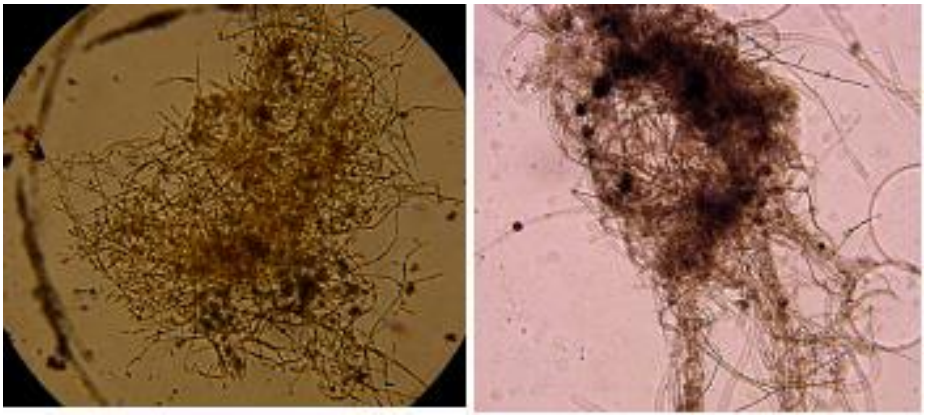
სურ. 20.1. გოგირდბაქტერიების (Beggiatoa, Thiorthrix) (ა), რკინაბაქტერიების Leptotryx და Ferribacterium ferroxidans, (ბ) და ნიადაგის ბაქტერია Shewanella oneidensis (გ) მიერ თავისუფალი გოგირდის კლასტერების წარმოქმნა მარსის იმიტირებულ გრუნტში



სხვა პროცესებისგან განსხვავებით, არაფოტომასინთეზირებელი გოგირდ-ბაქტერიების მიერ გოგირდის კრისტალების დაგროვება ანაერობული პროცესია. მინერალ პირიტზე (FeS_2) ბაქტერიების ზრდის სპეციფიკა მრავალსაფეხურიან ბიოქიმიურ მექანიზმს ეფუძნება: პირველი ეტაპია უჯრედის პლაზმურ მემბრანაზე რკინის შემცველი მინერალების ექსტრაცელულარული ჟანგვა და ამის შემდეგ ელექტრონები პერიპლაზმურ ციტოქრომ c-ს და ციტოქრომ-ოქსიდაზას გადაეცემა. რეაქციის შედეგად მიიღება თავისუფალი გოგირდი, ხოლო მინერალი პირიტი რკინის (II) სულფიდად, შემდეგ კი - სულფატად გარდაიქმნება:

$$S^{2-} + 2Fe^{3+} \rightarrow 2S^0 + 2Fe^{2+} + 2H^+$$

სურ. 20.2. გოგირდწყალბადის აღმდგენი ბაქტერიები Beggiatoa და Thiothrix.

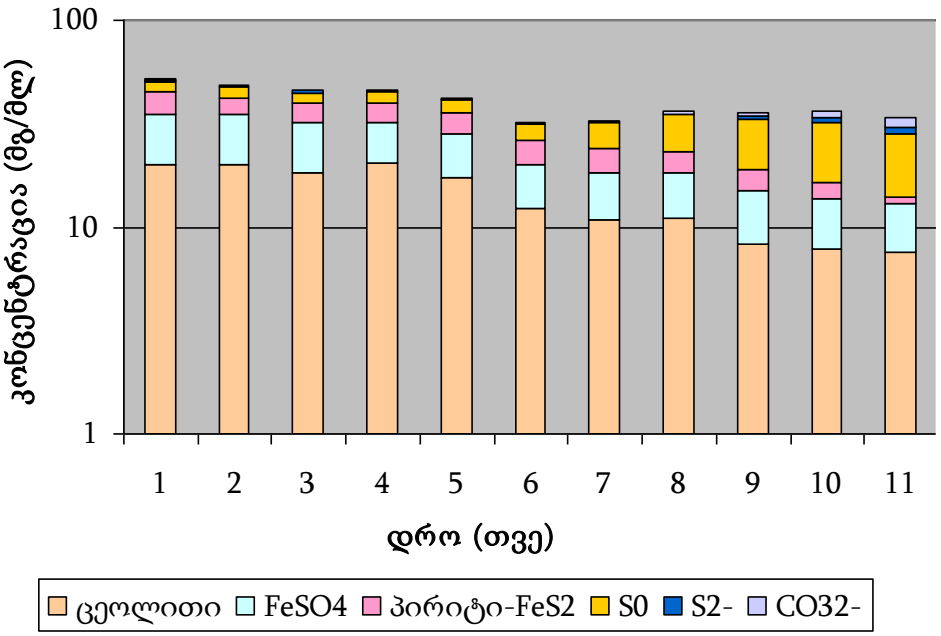


საინტერესოა, რომ მარსის გრუნტში გოგირდ-ბაქტერიების მიერ ხდება გოგირდის სხვადასხვა ალოტროპული სახეობის მოლეკულურად სუფთა სახით დალექვა, რაც დამატებით კვლევებს საჭიროებს. საინტერესოა, რომ ზოგიერთი ციანობაქტერიისთვის, რომლებიც ასევე გოგირდ-ბაქტერიებს წარმოადგენენ, კრისტალური გოგირდი ელექტრონების დონორს წარმოადგენს, მაგალითად, ფოტოსინთეზის გარდა, *Chlorobium Oceanii* აწარმოებს თავისუფალი S-სა და სულფატ იონების (SO_3^{2-}) ანაერობულ ფიქსაციას, რისი პროდუქტიც თავისუფალი აზოტია;

$$5S^0 + 6KNO_3 + 2H_2O \rightarrow 3K_2SO_4 + 2H_2SO_4 + 3N_2\uparrow$$

თავისუფალი აზოტის დეფიციტის პირობებში, მარსის ხელოვნურ გრუნტში მიმდინარე მსგავს რეაქციებს უდიდესი მნიშვნელობა აქვს მომავალში მარსზე აზოტის წრებრუნვის უზრუნველყოფისათვის, კერძოდ, აზოტფიქსატორი ორგანიზმების და მცენარეების სიმბიოზისთვის. მსგავსი მეტაბოლიზმით ხასიათდება მარსის ხელოვნურ გრუნტში მწვანე გოგირდ-ბაქტერია Thyobacillus Thioparrus. გოგირდბაქტერიების მიერ, "ხელოვნური მარსის" პირობებში, მარსის გრუნტის კომპონენტების გარდაქმნის სრული სურათი მოცემულია დიაგრამაზე 20.3.

დიაგრამა 20.3. გოგირდბაქტერიების (სახეობები) მიერ მარსის ხელოვნური გრუნტის კომპონენტების გარდაქმნა "ხელოვნური მარსის" პირობებში



როგორც აღმოჩნდა, მარსის ხელოვნურ გრუნტში არსებული რკინა-შემცველი მინერალები ავტოტროფული მიკროორგანიზმების ცხოველქმედებისათვის საჭირო ელექტრონების მნიშვნელოვანი დონორია, რაც ექსტრემოფილ პროკარიოტებში ციტოქრომ c-ს, რუბრედოქსინისა და ფერედოქსინის არსებობას უკავშირდება, რომლებსაც ანოქსიურ პირობებში სუნთქვისა და ფოტოსინთეზის ჯაჭვში ელექტრონების ტრანსპორტირების ფუნქცია აკისრიათ. შესაძლოა, შორეულ წარსულში, მარსზე მსგავსი ორგანიზმების

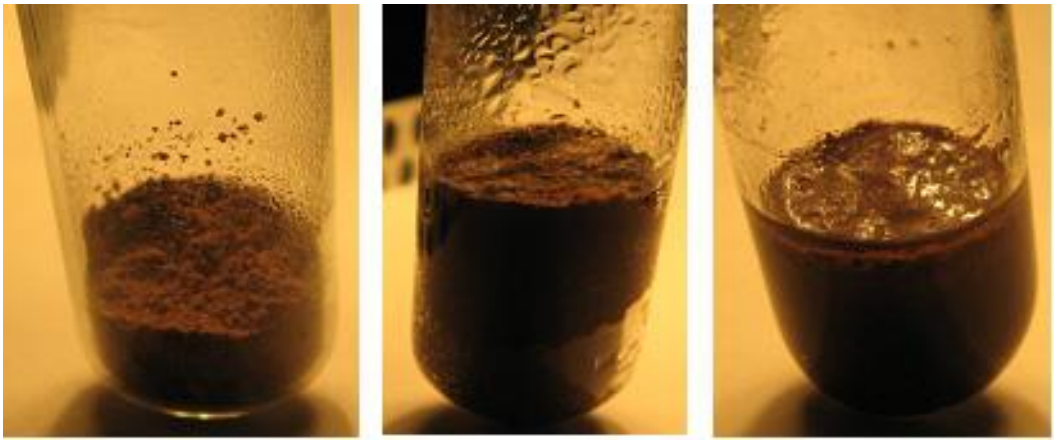
ცხოველქმედების შედეგად დაგროვდა Fe-, Mg-, Mn-, K-, Na - სულფატები და სხვა ხსნადი კომპონენტები ისეთ ლოკაციებზე, როგორიცაა: Chryse Planitia, Arrabia Terra, Amazonis Planitia და Marte Vallis პლანეტა მარსის ზედაპირზე.

თავი 21. მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაცია მეთან-ბაქტერიების მიერ

უაღრესად საინტერესოა ნიმუშები, რომლებშიც სპონტანურად წარმოიქმნა წყალი და ექსპერიმენტის დაწყებიდან 2 წლის შემდეგაც კი რჩება ნესტიანი (სურათი 21.1.). წინასწარი გამოკვლევებით გამოვლინდა მეთანობაქტერიის (Methanobacter) გვარის რამდენიმე წარმომადგენელი. საინტერესოა, რომ ზოგიერთი მკვლევარი მარსის ატმოსფეროში მეთანის შემცველობის სეზონური ცვალებადობის მიზეზად ბაქტერიულ მეთანოგენეზს ასახელებს.

$$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$$

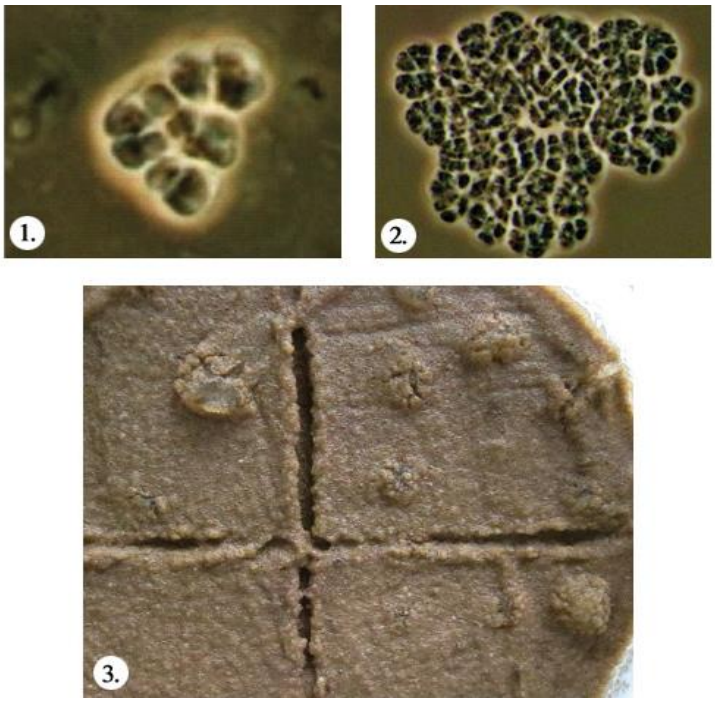
სურ. 21.1. მეთანობაქტერიების მიერ მეთანისა და წყლის წარმოქმნა მარსის ხელოვნურ გრუნტში



მეთანობაქტერიები ანუ მეთანოგენები - *არქებაქტერიების* ჯგუფს განეკუთვნებიან. მეთანის სინთეზი ანაერობულ პირობებში, რამდენიმე საფეხურად მიმდინარეობს და ე.წ. მეთილ-რედუქტაზას სისტემით კატალიზდება. სისტემა შეიცავს ორ კომპონენტს - ენზიმი მეთილ-რედუქტაზა აღადგენს მეთილ-CoA-ს და მეთანო-ფურანს CH_4-მდე; ელექტრონების გადამტანია F_{430} ანუ Ni-ტეტრაპიროლი. პირველი ორი კომპონენტი მხოლოდ

მეთანოგენებშია აღმოჩენილი, ხოლო F_{430} ანუ Ni-ტეტრაპიროლი ბაქტერიებსა და ეუკარიოტებშიც არის წარმოდგენილი. საინტერესოა, რომ ზოგიერთი მეთილოტროფი ბაქტერია მეთანს ნახშირბადის წყაროდ იყენებს, მათ შორისაა დენიტრიფიკატორების რამდენიმე სახეობა, მაგ. P. Denitrificans, რამაც შეიძლება მნიშვნელოვანი როლი შეასრულოს. სურათზე 21.2. წარმოდგენილია მარსის გრუნტში ინტენსიურად მზარდი ზოგიერთი მეთან-ბაქტერიის მიკროსკოპული სურათი და მათ მიერ აიროვანი ჯიბეების წარმოქმნის პროცესი. ხოლო სურათზე 21.3. წარმოდგენილია მარსის გრუნტში მეთან-ბაქტერიების ზრდის დინამიკა.

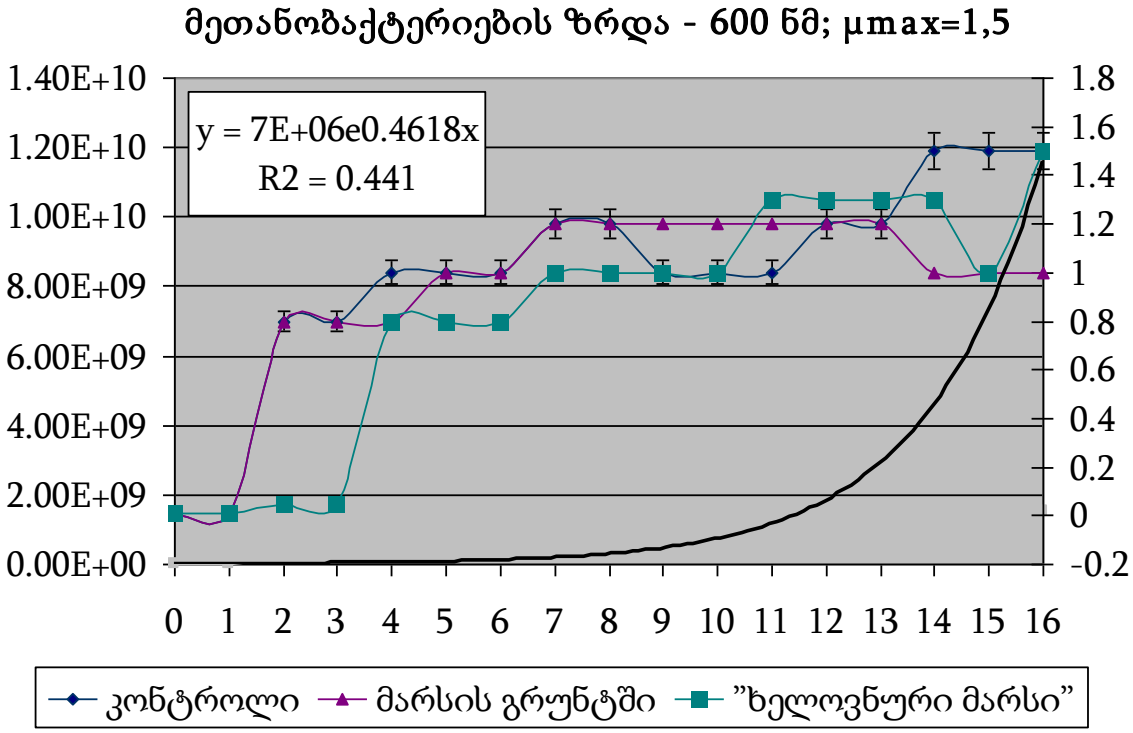
სურ. 21.2. მეთანობაქტერიები: 1. Methanosarcina Mazeii და 2. Methanosarcina Barkerii "ხელოვნური მარსის" პირობებში) და 3. მათ მიერ აიროვანი კლასტერების წარმოქმნა მარსის ხელოვნურ გრუნტში.



წყლის გარდა, მარსის ხელოვნურ გრუნტში მეთან-ბაქტერიების მიერ მეთანის წარმოქმნა უმნიშვნელოვანესია იმ თვალსაზრისითაც, რომ ეს ერთ-ერთი სათბური გაზია, რომლის სულ მცირე 70% დედამიწაზე ბიოგენური წარმოშობისაა. მიკროორგანიზმების მიერ პლანეტა მარსის ატმოსფეროში

მეთანის ინტენსიურ ინკორპორაციას პლანეტის დათბობის ერთ-ერთ ყველაზე უფრო იაფ და საიმედო ტექნოლოგიად მიიჩნევენ.

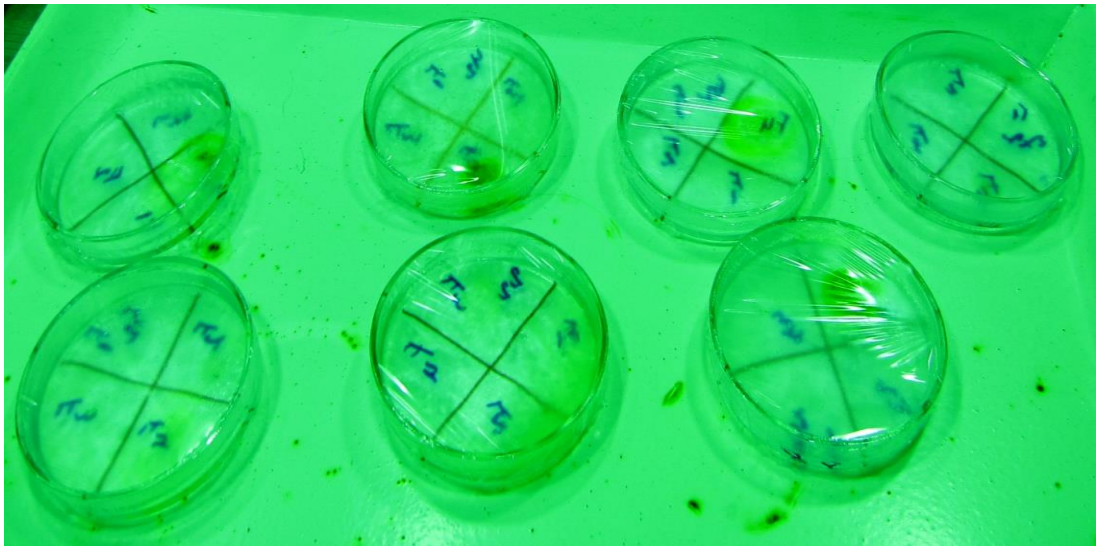
სურ. 21.3. მეთანობაქტერიების ზრდა მარსის ხელოვნურ გრუნტში



თავი 22. ექსტრემოფილი მიკროორგანიზმების შეგუება მარსის გრუნტში არსებული პერქლორატების შემცველობისადმი

მარსმავალ “Curiosity”- ს მიერ გადმოცემული უახლესი ინფორმაციის მიხედვით, მარსის გრუნტში, ლოკაციის მიხედვით, წარმოდგენილია პერქლორატების სხვადასხვა კონცეტრაცია 1-1,5%-ის ფარგლებში. აქედან გამომდინარე, შევისწავლეთ მიკროორგანიზმებზე სხვადასხვა პერქლორატის განსხვავებული კონცენტრაციების ზეგავლენა. როგორც გაირკვა, პერქლორატების არცერთი პროცენტული შემცველობა არ არის ლეთალური ყველა სახეობის მიკროორგანიზმისთვის. “ხელოვნური მარსის” პირობებში შეინიშნებოდა მიკრობების ინტენსიური ზრდა (სურათი 22.1.).

სურ. 22.1. ტესტი პერქლორატებზე სილიკაგელში. შეინიშნებოდა მიკრობების ინტენსიური ზრდა “ხელოვნური მარსის” პირობებში. თითოეულ ჯამზე პერქლორატის კონცენტრაცია იცვლებოდა 0,1 – 0,2 – 0,5 – 0,8 – 1 – 1,2 – 1.5%-ის ინტერვალით.



ჩვენ მიერ გამოვლენილი იქნა Dechloromonas sp. გვარის გადარჩენილი სახეობები; ასევე - რკინაბაქტერია - Ferribacterium; Rhodoferax ferrireducens და მეთანწარმომქმნელი ბაქტერიების ზოგიერთი გვარის წარმომადგენელი. როგორც ჩანს, ამ მიკროორგანიზმებს გააჩნიათ სპეციფიკური ენზიმები, რომლებიც უზრუნველყოფენ პერქლორატების დაშლას და ეს ენზიმები აქტიურდებიან ულტრაიისფერი გამოსხივების ზეგავლენით.

ცხრილში 22.1 და დიაგრამაზე 22.3 მოცემულია მარსის იმიტირებულ (სილიკატოვან) გრუნტში ამ ბაქტერიათა ნარევის მიერ სხვადასხვა კონცენტრაციის პერქლორატების ხსნარის განეიტრალების დინამიკა ლაბორატორიულ და მარსის იმიტირებულ პირობებში.

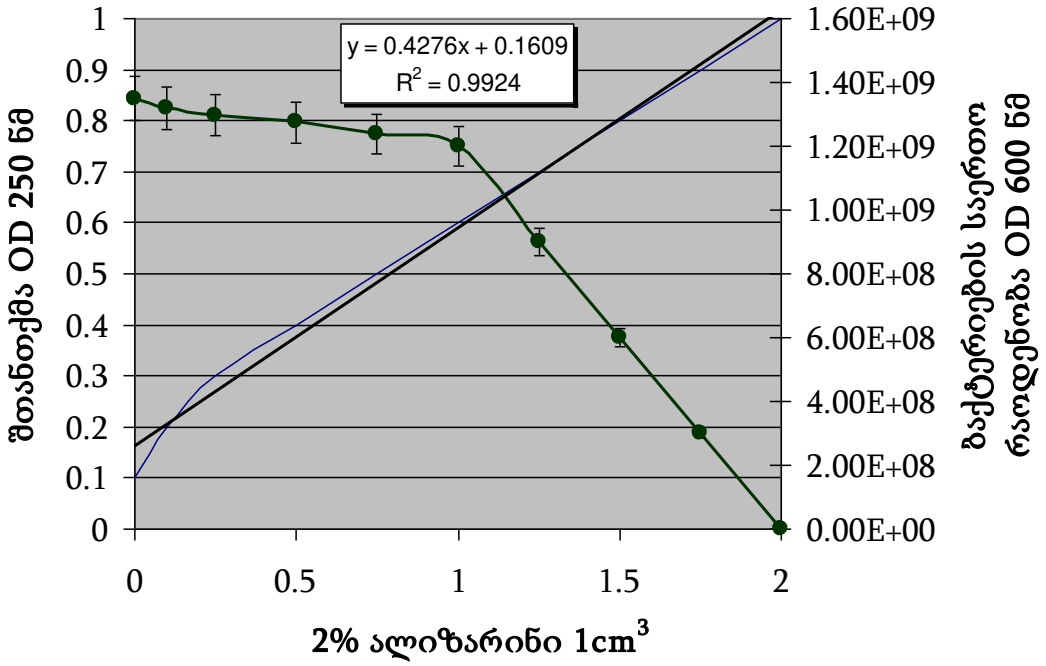
მიღებული შედეგები გვიჩვენებს: 1. პერქლორატების ოპტიმალურ კონცენტრაციებს პერქლორატ-ტოლერანტული მიკროორგანიზმებისათვის; 2. მიკროორგანიზმების სხვადასხვა სახეობის მიერ მარსის გრუნტში არსებული პერქლორატების ბიორემედიაციის მოსალოდნელ კინეტიკას, კონცენტრაციაზე დამოკიდებულებით.

ცხრილი 22.1. სხვადასხვა სახეობების ზრდის ჯამური გრაფიკი ”ხელოვნური მარსის” პირობებში, 24 კვირის მანძილზე, სილიკაგელზე (კონტროლი) და მარსის ხელოვნურ გრუნტში. ბაქტერიების ზრდას აღვრიცხავდით მაკ-ფარლანდის (600 ნმ) და ვინოგრადსკი-ბრიდის კომბინირებული მეთოდით. K - კონტროლი; M - ”ხელოვნური მარსი”.

მიკროორგანიზმი	**ხსნარის კონცენტრაცია % მგ/მლ**						
	0.1	**0.2**	**0.5**	**0.8**	**1**	**1.2**	**1.5**
Ferribacterium (K)	2.52	2.09	0.04	2.62	0.14	0.38	1.55
Ferribacterium (M)	2.63	2.21	0.60	2.69	1.09	1.48	1.22
Dechloromonas (K)	2.65	0.07	0.04	1.92	0.04	1.26	1.09
Dechloromonas (M)	2.02	0.22	0.08	0.69	0.11	0.06	1.78
Methanobacterium (K)	2.33	0.98	0.09	1.84	0.62	0.05	1.24
Methanobacterium (M)	2.48	0.03	0.10	2.56	0.30	0.06	1.88
Methanosarcina mazei (K)	2.56	0.45	0.09	2.56	0.30	0.06	0.98
Methanosarcina mazei (M)	2.54	0.02	0.10	2.25	0.57	0.98	0.62
Dechloromonas (K)	1.08	1.05	1.12	0.03	0.34	1.74	2.64
Dechloromonas (M)	1.01	1.29	0.11	0.15	0.5	2.18	1.54

სურ. 22.2. პერქლორატ-დამშლელი ზოგიერთი ექსტრემოფილის მიკროსკოპული სურათი. 1. Methanosarcina mazei, 2. Ferribacterium; 3. Haloferax denitrificans.

დიაგრამა 22.3. ბაქტერიების შერეული კოლონიის მიერ პერქლორატის 1,5%-იანი ნარევის ათვისების დინამიკა სილიკაგელის კონტროლში და მარსის იმიტირებულ გრუნტში. 2%-იანი ალიზარინის სტანდარტული ოპტიკური მრუდი *pH*~9-ზე (მარსის გრუნტი). *pH*-ის ცვლილება არ ფიქსირდება.



ინტერნეტ-ლიტერატურაში მოიპოვება ცნობები ენზიმ პერქლორატ-რედუქტაზასა და ქლორიტ-დისმუტაზას შესახებ, რაც უაღრესად საინტერესოდ და პერსპექტიულად მოჩანს [89, 90, 91]. სარეაქციო არეში აღინიშნებოდა ამიაკის სუნი და ააღებადი აირის (სავარაუდოდ - მეთანის) გამოყოფა. აქედან გამომდინარე, შევადგინეთ ჩვენი მიკრობული შტამების მიერ პერქლორატების ბიოქიმიური გარდაქმნის სავარაუდო სქემა:

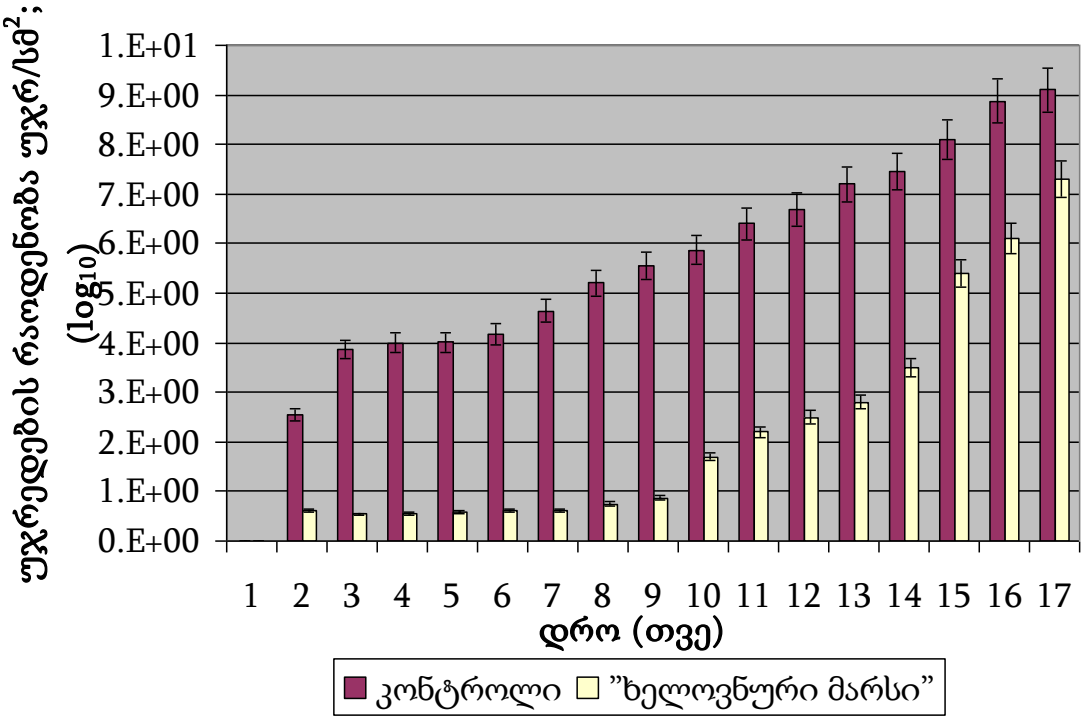
$$ClO_4^- + CO_2 \rightarrow Cl^- + CO_3^{2-} + O_2 + NH_3\ (CH_4)$$

ამ სქემის სასარგებლოდ მეტყველებს ემპირიული მონაცემები, კერძოდ, გრუნტში მანგანუმის ტეტრაქლორიდის კონცენტრაციის ზრდა მანგანუმის ოროქსიდის კონცენტრაციის შემცირების ხარჯზე. ნებისმიერ შემთხვევაში, მარსის გრუნტის პოტენციური ბიორემედიაციის მხრივ სასარგებლოა ხსნადი კარბონატების წარმოქმნა გრუნტში და ჟანგბადის გამოყოფა ატმოსფეროში.

თავი 23. საქართველოს ექსტრემალური ეკოსისტემებიდან მოპოვებული მიკროორგანიზმების მიერ მარსის ბიორემედირებული ხელოვნური გრუნტის აგროკულტურული პოტენციალი და მიკროორგანიზმების ზრდის საშუალო სტატისტიკა ხელოვნური მარსის პირობებში

მიღებულმა შედეგებმა გვიჩვენა, რომ ბევრი სახეობის მიკროორგანიზმი არა მხოლოდ გადარჩება მარსის გრუნტის პირობებში, არამედ აწარმოებენ მარსის ხელოვნური გრუნტის გარკვეული კომპონენტების ბიოლოგიურ გარდაქმნას. წარმოდგენილია ყველა გამოკვლეული მიკროორგანიზმის გადარჩენისა და ზრდის მრუდები ლაბორატორიულ პირობებში (კონტროლი); მარსის სადგურისა (ნორმალური წნევა და განათებულობა) და პლანეტა მარსის იმიტირებულ პირობებში (დიაგრამა 23.1).

დიაგრამა 23.1. მიკროორგანიზმების გადარჩენისა და ზრდის სტატისტიკა კონტროლსა და "ხელოვნურ მარსზე". გამოთვლილია შერეული კოლონიებიდან მიღებული საშუალო მნიშვნელობების მიხედვით.



როგორც აღმოჩნდა, მიკროორგანიზმების ზრდის დინამიკის შედეგების სტატისტიკური მონაცემები კონტროლსა და მარსის სადგურის პირობებს შორის დიდად არ განსხვავდება ($p>0,05$), სამაგიეროდ, ძალიან დიდი სხვაობაა ”ხელოვნური მარსის” პირობებში მიღებულ შედეგებთან შედარებით: აქ მიკროორგანიზმების გადარჩენისა და ზრდის დინამიკა დაახლოებით 100-ჯერ და მეტად ნაკლები იყო, ვიდრე კონტროლში ($P<0,05$); (დიაგრამა 23.1). გარდა ამისა, მნიშვნელოვნად იცვლებოდა კოლონიების სახეობრივი თანაფარდობებიც.

შედეგები გვიჩვენებს, რომ ბაქტერიების საერთო რაოდენობა ”ხელოვნურ მარსზე” მოთავსებულ ნიმუშებში გაცილებით უფრო მცირე რაოდენობითაა, ვიდრე კონტროლსა და მარსის სადგურის პირობებში განთავსებულ ხელოვნურ გრუნტში. პირველი თვეების განმავლობაში ”ხელოვნური მარსის” ნიმუშებში უჯრედების რაოდენობა შემცირდა საშუალოდ 4 უჯრ/სმ^2-მდე, მაშინ როდესაც პარალელურ კოლონიებში უჯრედების საშუალო რაოდენობა 400 უჯ/სმ^2 ფარგლებში მერყეობდა. მკვდარი უჯრედების გამორიცხვის მიზნით, რაოდენობას ვითვლიდით ვინოგრადსკი-ბრიდის მოდიფიცირებული მეთოდით, ჰემატოციტომეტრის გამოყენებით.

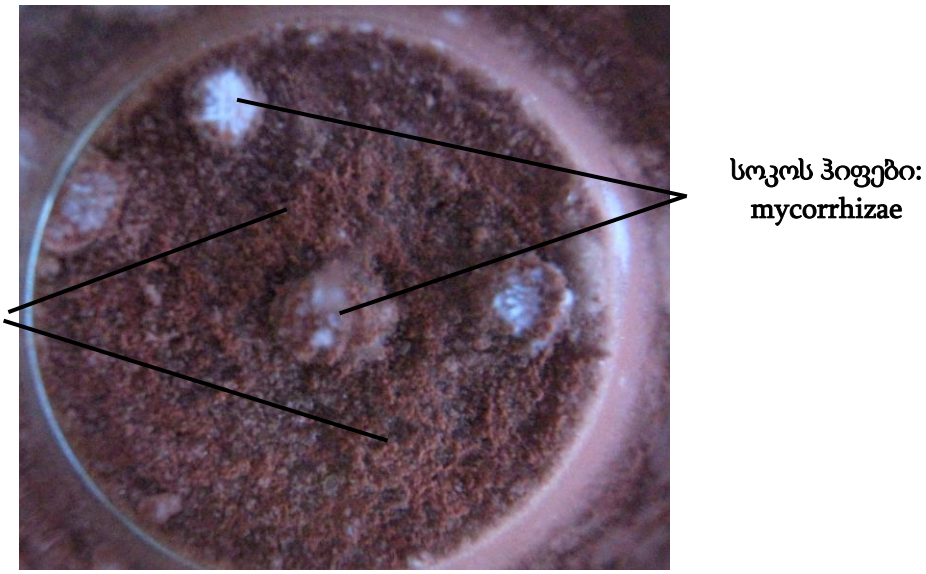
მარსის იმიტირებული გრუნტიდან ამოთესილი და იდენტიფიცირებული სახეობებიდან მარსის სადგურის პირობებში გადარჩება და იზრდება ცხრილში 17.1. ჩამოთვლილი ყველა მიკროორგანიზმი. ”ხელოვნური მარსის” პირობებში ადგილი აქვს ბევრი მიროორგანიზმის ელიმინაციას (ცხრილი 17.1). ვინოგრადსკი-ბრიდის მეთოდით მიღებულ შედეგებს ვამოწმებდით სპექტროფოტომეტრით და ვიღებდით საშუალო მნიშვნელობას, რომელიც მოცემულია გრაფიკებში.

მარსის იმიტირებული გრუნტის ბიორემედიაციულ პოტენციალი შემოწმებული იქნა როგორც ცალკეული გვარის მიკროორგანიზმების, ასევე - შერეული კოლონიების გამოყენებით. სილიკაგელის ავტოტროფული მატრიცის გამოყენების გარეშე. ნივთიერებები განისაზღვრებოდა ტიტრირების მეშვეობით, რისთვისაც ვახდენდით ცენტრიფუგირებული გრუნტის

სუპერნატანტში წყალში ხსნადი კომპონენტების იონური კონცენტრაციების განსაზღვრას. ანალიზები ტარდებოდა 10 თვის განმავლობაში.

ექსპერიმენტის საბოლოო ეტაპზე მიზნად დავისახეთ დიდი რაოდენობით მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიორემედიაციის განხორციელება ”ხელოვნური მარსის” პირობებში გადარჩენილი მიკროორგანიზმების ნარევის მეშვეობით, რისთვისაც 1 კგ მარსის ხელოვნურ გრუნტში ჩამატებული იქნა 1 ლ მოცულობის ნარევი. ჭურჭელი შევავსეთ ნახშირორჟანგით, ნარევი დავლუქეთ და მოვათავსეთ ”ხელოვნურ მარსზე” 1 წლის განმავლობაში.

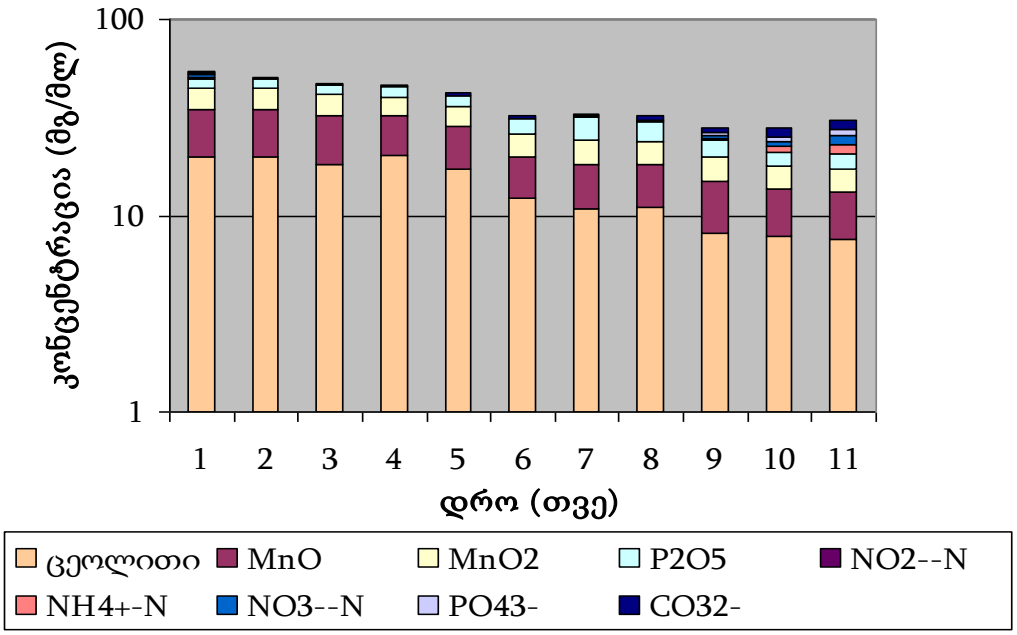
სურ. 23.2. რკინა-ბაქტერიების ჟანგისფერი მეტაბოლიტები და სოკოს ჰიფები (mycorrhizae) მარსის ბიორემედირებულ გრუნტში. ზედაპირზე არის დიდი რაოდენობით წყალი და მასში გახსნილი მინერალები. ციანობაქტერიები და ზოგიერთი წყალმცენარე აკუმულირებულია წყალქვეშ, გრუნტში.



1 წლის შემდეგ გრუნტის უმეტესმა ნაწილმა აშკარად აჩვენა ორგანული აფსკის არსებობა 8 მმ სისქით, რაც თავიდან აღებული გრუნტის რაოდენობის ნახევარზე მეტია (სურათი 23.2). მარსის გრუნტში ნიტრატებისა და პოსფატების დაგროვების დინამიკა 12 თვის განმავლობაში მოცემულია დიაგრამაზე 23.3.

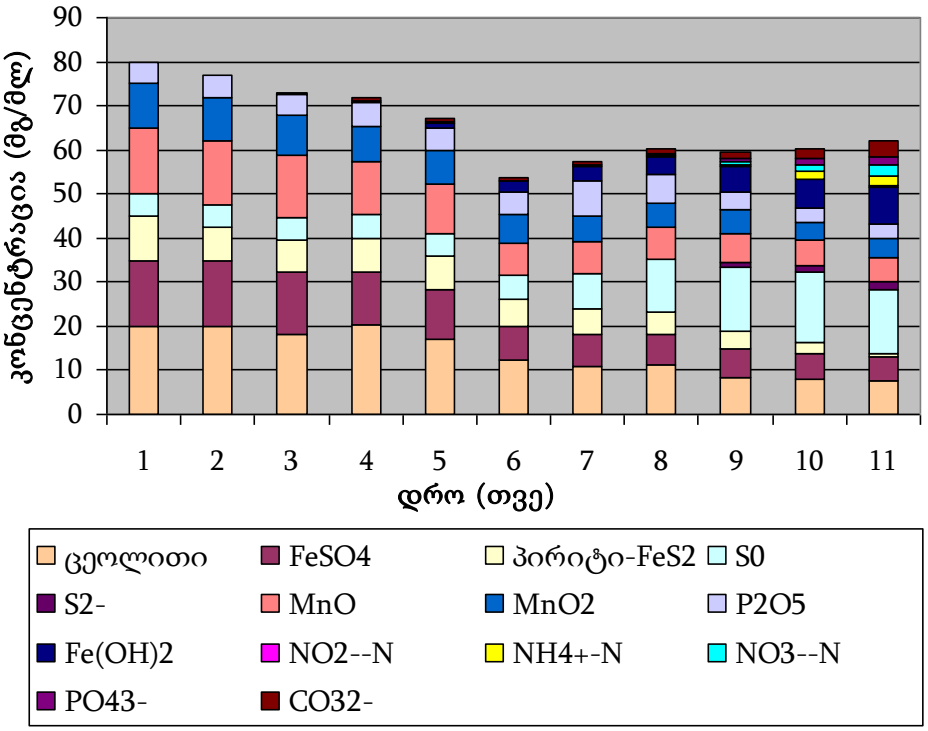
ხოლო მარსის გრუნტის ანალიზის შედეგები გარდაქმნამდე და გარდაქმნის შემდეგ მოცემულია სურათზე. 23.4.

დიაგრამა 23.3. მარსის გრუნტში ფოსფატებისა და ნიტრატების დაგროვების დინამიკა ”ხელოვნური მარსის” პირობებში. ვიყენებდით ნესლერის რეაგენტს, ვზომავდით 600 ნმ–ზე. ფოსფატებს განვსაზღვრავდით ტიტრირებით.



წარმოდგენილი სურათიდან ჩანს, რომ მარსის იმიტირებული გრუნტის მიკრობიოლოგიურ საკვებ არესთან შერევიდან ორი კვირის შემდეგ. ზედაპირზე შეიმჩნევა რკინაბაქტერიების ჟანგისფერი ნაფიფქი, თეთრი წარმონაქმნები წარმოადგენს სოკოს ჰიფებს, რომელთა განვითარება შეუძლებელი იქნებოდა, თუკი ბაქტერიების ზემოქმედებით მარსის გრუნტში არ დაგროვდებოდა ორგანული ნივთიერებები. ჩვენი მოსაზრებით, ციანობაქტერიების ფოტოსინთეზმა განაპირობა კარბონატების, ნიტრატებისა და ფოსფატების დაგროვება; რკინის შემცველი მინერალები ათვისებულ იქნა რკინაბაქტერიების მიერ. ასევე – სილიკატები სილიკობაქტერიების მიერ. ამის შემდეგ, ორგანულ ფენაზე შესაძლებელი გახდა გარკვეული სახეობის სოკოების და ჰეტეროტროფი მიკროორგანიზმების განვითარება.

დიაგრამა 23.4. მარსის გრუნტის ბიორემედიაცია მარსის იმიტირებულ პირობებში 11 თვის მანძილზე – მეტაბოლური ანალიზი.



გამოვცადეთ ერთი წლის განმავლობაში ბიორემედირებული მარსის ხელოვნური გრუნტის ბიოგენური თვისებები და აგროკულტურული პოტენციალი, რისთვისაც მასში დავთესეთ ლობიო და ხორბალი. აღმოჩნდა, რომ ბიორემედირებულ გრუნტში შესაძლებელია უმაღლესი მცენარეების, კერძოდ, სასოფლო-სამეურნეო კულტურების ზრდა, რასაც უდიდესი მნიშვნელობა ენიჭება მარსის მომავალი კოსმოსური კოლონიების საკვებით უზრუნველყოფის ამოცანაში. სურათი 23.5 გვიჩვენებს გვიჩვენებს ლობიოს ((P. vulgaris nigra)) და ხორბალის (T. aestivum) ზრდას მარსის ხელოვნურ გრუნტში საქართველოს ექსტრემალურ ეკოსისტემებში მოპოვებული მიკროორგანიზმებით ბიორემედიაციის შემდეგ.

სურ. 23.5. ხორბალის (T. aestivum) და ლობიოს (P. vulgaris nigra) ზრდა მარსის ბიორემედირებულ ხელოვნურ გრუნტში.

დასკვნები

1. საქართველოს ექსტრემალურ ეკოსისტემებში მოპოვებული მიკროორგანიზმები იზრდებიან მარსის ხელოვნურ გრუნტში, ზოგიერთი პოლიექსტრემოფილი ორგანიზმი სიცოცხლისუნარიანია ასევე პლანეტა მარსის ეკოსისტემის იმიტირებულ პირობებში (ცხრილი 17.1);

2. ხელოვნურ მოდელზე დაყრდნობით, პლანეტა მარსის გრუნტი არის მოჩვენებითად ბიოგენური და მიკრობიოლოგიური რემედიაციის გარეშე მასში მცენარეების განვითარება შეუძლებელია; მარსის გრუნტში მინერალ ცეოლითის არსებობა ზრდის მარსის გრუნტის ბიორემედიაციის პოტენციალს ატმოსფერული წყლის და ბიოგენური აირების, ასევე ბაქტერიული მეტაბოლიტების აკუმულაციის მეშვეობით; გრუნტში პერქლორატების შემცველობა მიკრობებისთვის ლეთალურ ფაქტორს არ წარმოადგენს და ხშირ შემთხვევაში შეიძლება წარმოადგენდეს ჟანგბადის დამატებით წყაროს;

3. მარსის გრუნტის ბიორემედიაცია შესაძლებელია მხოლოდ ციანობაქტერიებითაც, თუმცა მულტი-სახეობრივი კოლონიები განაპირობებს პროცესის აქსელერაციას და საიმედოობას;

4. პლანეტა მარსის გრუნტში აღმოჩენილი კარბონატები და სულფატები, სავარაუდოდ, შესაძლებელია იყოს მარსზე ოდესღაც არსებული თერმული წყაროების ან სიცოცხლის გარკვეული ფორმების, არსებობის ინდიკატორი; მარსის რეალურ გრუნტში, ზედაპირზე აღმოჩენილი ბორცვაკები შესაძლებელია იყოს პლანეტაზე დედამიწისეული ექსტრემოფილი მიკროორგანიზმების ინკორპორაციის შედეგი; მარსის ატმოსფეროში აღმოჩენილი მეთანი შესაძლებელია იყოს ბიოგენური, ხოლო მისი კონცენტრაციის სეზონურობა უკავშირდებოდეს მეთან-ბაქტერიების მსგავსი ორგანიზმების ცხოველქმედებას.

5. მომავალში, მარსის დასახლებული კოლონიების უზრუნველყოფის მიზნით, საქართველოს ექსტრემალურ ეკოსისტემებში მოპოვებული მიკროორგანიზმების მეშვეობით, მარსის გრუნტის ბიორემედიაცია და აგროკულტივირება შესაძლებელია.

ციტირებული ლიტერატურა

1. E. E. Hale, “The Brick Moon”. Atlantic Monthly, Vol. 24, 1869;
2. Harlow Shapley, “Of Stars and Men”, Washington square, 1959;
3. Циолковский К. Э. Планеты заселены живыми существами. Л. 1933;
4. Portree, David S. F., “Humans to Mars: Fifty Years of Mission Planning”, 1950 - 2000, NASA, Monographs in Aerospace History Series, Number 21, February 2001;
5. Von Braun, W.: “Crossing the Last Frontier”, Colliers, March 22,1952;
6. Von Braun, W.: “Project Mars – A Technical Tale”. Collector's Guide Publishing, Inc. 2006. USA
7. http://www.astronautix.com/v/vonbraunmarpedition-1969.html
8. Svante Arrhenius, “Worlds in the making; the evolution of the universe”, Academic Publishing House, Leipzig, 1908;
9. Lovell P. “Mars as the abode of life” The MacMillan company, 1908, New York;
10. Whipple Fred L. “Earth, Moon and Planets”; The Blackiston Company/Maple Press Company, York, PA. 1946, pp 205-258;
11. Тихов Г. А. “Шестьдесят лет у телескопа”. М.: Государственное издательство детской литературы, 1959;
12. Г.А. Тихов. ”Астроботаника”. Москва: «Молодая Гвардия», 1949;
13. Г.А. Тихов. ”Астробиология”. Москва: «Молодая Гвардия», 1953;
14. К. А. Любарский, “Очерки по астробиологии”. М.: Изд-во АН СССР, 1962 г., 120 *Кронид.* “Избранные статьи К. Любарского”, Г. И. Салова, М.: «РГГУ» 687 с. 2001 ISBN 5-7281-0406-1];
15. Firsoff V. A. Life beyond the Earth. A study in exobiology; Hutchinson, 1963;
16. Kluger, Jeffrey. "Rocket Scientist Robert Goddard". Time. 1999, Retrieved 2010-04-23;
17. ”Основы космической биологии и медицины”. Т. I, II-1, II-2, III. NASA "STIO"; W.DC; изд. "Наука". М. 1975;

18. NASA –"Mars Exploration Program Analysis Group". http://mepag.jpl.nasa.gov/
19. NASA –"Human Explorations of Mars. Special Publication", 1997, http://nssdcftp.gsfc.nasa.gov/miscellaneous/planetary/mars_future/mars_ref_mission_sp6107.pdf
20. Buckey, Jr, J.C.,"Preparing for Mars". European Journal of Medical Research, 1999, 4, pp 353-356;
21. D.S. McKay et al. "Mission to Mars", Science 273, 924-930; 1996;
22. T. P. Meloy "Mars Environmental Compatibility Assessment (MECA) - Identifying the Hazards of the Martian Soil" 1. W. Virginia University, 338 COMER, P.O. Box 6070, Morgantown, WV 26506 USA
23. ESA - European Space Agency – "Cosmic Vision 2015 – 2025". http://www.esa.int/esaSC/SEMA7J2IU7E_index_0.html
24. მ. ტარასაშვილი, ნ. ალექსიძე. "მარსის გრუნტის ბიორემედიაციის პრობლემები და ატმოსფეროს ფორმირება", მეცნიერება და ტექნოლოგიები, ISSN 0130-7061, ტ. 7-9,გვ. 35;
25. შ. საბაშვილი, ს წერეთელი, მ. ტარასაშვილი, ნ. ალექსიძე; "მარსის რადიაციული და ტემპერატურული პარამეტრების მოდელირება ბიოლოგიური ექსპერიმენტებისათვის", მეცნიერება და ტექნოლოგიები, ISSN 0130-7061, ტ. 7-9, გვ. 14;
26. Tarasashvili M.V., Aleksidze N.D. "Microbiological Remediation of Martian Soil for Future Terraformation of the Planet", Astrobiology Science Conference: "Evolution and Life: Surviving Catastrophes on Earth and Beyond", League City, Texas, 2010, USA;
27. Tarasashvili M. V. "Extreme Autotrophic Bacteria on Earth hold potential for Microbiological Remediation of Martian Soil", 8th annual Astrobiology Graduate Conference, Montana State University, Bozeman, MT, 2011, USA;
28. Tarasashvili M. V., "Mars Terraformation Autotrophs - Cultivation and Transplantation Methods", Astrobiology Graduate Conference - AbGradCon'12, California Institute of Technology, 2012;

29. Tarasashvili, M., Sabashvili, S., Tsereteli, S., & Aleksidze, N. (2013). New model of Mars surface irradiation for the climate simulation chamber 'Artificial Mars'. International Journal of Astrobiology, 12 (2), 161-170. doi:10.1017/S1473550413000062
30. Tarasashvili, M., Sabashvili, S., Tsereteli, S., Aleksidze, N., & Dalakishvili, O. (2016). Semi-automated operation of Mars Climate Simulation chamber – MCSC modeled for biological experiments. International Journal of Astrobiology,1-15. doi:10.1017/S1473550416000380;
31. Davis I., Fulton J. D. The Reactions of Terrestrial Microorganisms to Simulated Martian Conditions. 1959. Proc. X Internat. Astron. Congr. London; 2 Wien, Springer-Verlag., p. 778;
32. Zhukova A. I., Kondratyev I. I. On artificial Martian conditions reproduced for microbiological research. 1965; Life Sciences and Space Research 3: p.120-6., Source - USSR Academy of Sciences, Moscow;
33. Zill L. P., Mack R., DeVincenzi D. L., Mars ultraviolet simulation facility.(1979); Journal of molecular evolution; Dec.14(1-3): p. p. 79-89;
34. Calvin M. Gazenco G. FOUNDATION OF SPACE BIOLOGY AND MEDICINE; (1979) Vol. 1 – Space as a Habitat, pp. 304-311
35. Ten Kate I.L., Ruiterkamp R., Botta O., Lehmann B., Gomez Hernandez C., Boudin N., Foing B.H. and Ehrenfreund P., Investigating complex organic compounds in a simulated Mars environment, (2003) International Journal of Astrobiology 1 (4) : 387–399 UK, doi: 10.1017/S1473550403001277 *f*2003 Cambridge University Press;
36. Galletta G, Ferri F, Fanti G, D'Alessandro M, Bertoloni G, Pavarin D, Bettanini C, Cozza P, Pretto P, Bianchini G, Debei S.. S.A.M., the Italian Martian simulation chamber (2006), Origins of Life and Evolution of the Biosphere, Dec. 36(5-6). p. 625-7;
37. http://www.nasa.gov/centers/kennedy/missions/xtremebacteria.html

38. Smith D. J., Schuerger A C., Davidson M. M., Pacala S. W., Bakermans C. and Onstott T. C. Survivability of *Psychrobacter cryohalolentis* K5 under Simulated Martian Surface Conditions (2009). Astrobiology, Volume 9, Number 2; doi: 10.1089/ast.2007.0231;
39. Berry, B. J., Jenkins, D. G., and Schuerger, A. C. (2010). Inhibition of *Escherichia coli* and *Serratia liquefaciens* under high-salt, low-pressure, and low-temperature environments that approach surface conditions on Mars. Appl. Environ. Micro. 76(8), 2377-2386;
40. Schuerger, A. C., Clausen, C., and Britt, D. 2011. Methane evolution from UV-irradiated spacecraft materials under simulated Martian conditions: Implications for the Mars Science Laboratory (MSL) mission. Icarus 213, 393-403;
41. Schuerger, A. C., Moores, J. E., Barlow, N., Clausen, C., and Britt, D. 2012. Methane evolution from UV-irradiated carbonaceous meteorites under simulated Martian conditions. *JGR, Planets* 117(E08007), doi: 10.1029/2011JE004023;
42. Schuerger A.C, Mancinelli R. L, Kern R. G, Rothschild L. J, McKay C. P, Survival of endospores of *Bacillus subtilis* on spacecraft surfaces under simulated Martian environments: implications for the forward contamination of Mars (2003) Icarus. Oct; 165(2):253-76;
43. http://cab.inta-csic.es/rems/rems_CAMARA_en.html
44. https://mars.nasa.gov/mars-yard/
45. http://www.aa.washington.edu/research/isru/facilities.html
46. http://www.lpi.usra.edu/publications/reports/CB-955/washington.pdf
47. Jensen L. L, Merrison J., Hansen A. A., Mikkelsen K. A., Kristoffersen T., Nornberg P., Lomstein B. A., Finster K. A facility for long-term Mars simulation experiments: the Mars Environmental Simulation Chamber (MESCH) (2008), Astrobiology. Jun; 8 (3):537-48. doi: 10.1089/ast.2006.0092;
48. http://www.esa.int/Our_Activities/Human_Spaceflight/Human_Spaceflight_Research/DLR_-_Mars

49. http://www.dlr.de/pf/en/desktopdefault.aspx/tabid-152/1348_read-2900/
50. http://meetings.copernicus.org/epsc2010/abstracts/EPSC2010-124.pdf
51. Dartnell L. R.; Patel M., Storrie L., Michael C., Ward J. M. and Muller, JP. Experimental determination of photostability and fluorescence-based detection of PAHs on the Martian surface (2012). Meteoritics & Planetary Science, 47(5), pp. 806–819;
52. Yu-Lei D., Guang C. and Zang M-S., Raman Study of Low-Temperature Phase Transitions in Polycrystalline $Bi_4Ti_3O_{12}$ Thin Films (2003). Chinese Physics Letters, 57, 744-752;
53. Duffy M., Lewis S., Mason N. and Patel M. Laboratory simulation of Martian atmospheric chemistry (2012). In: EPSC 2012, 23-28, Madrid, Spain;
54. September 30, 1977 issue of the Journal of Geophysical Research, "Scientific Results of the Viking Project", vol. 82, no. 28;
55. M. H. Hecht, S. P. Kounaves, *et al.,* "Detection of Perchlorate and the Soluble Chemistry of Martian Soil at the Phoenix Lander Site", ***Science***, 2009, ***325***, 64-67;
56. S. P. Kounaves, *et al.,* "The MECA Wet Chemistry Laboratory on the 2007 Phoenix Mars Scout Lander", *J. Geophys. Res.*, *114*, **2009**, E00A19.
57. S. P. Kounaves, *et al.,* "Soluble Sulfate in the Martian Soil at the Phoenix Landing Site", *Geophys. Res. Lett.*, **2010**, *37*, L09201;
58. National Aeronautics and Space Administration, “Phoenix Landing – mission to the Mars north”, 2008;
59. https://nssdc.gsfc.nasa.gov/planetary/mesur.html
60. Mukbaniani, O., Aneli, J., Markarashvili, E., Tarasashvili, M., & Aleksidze, N. (2016). Polymeric composites on the basis of Martian ground for building future mars stations. *International Journal of Astrobiology, 15*(2), 155-160. doi:10.1017/S1473550415000270;
61. https://www.ltu.edu/blogs/biomedstudents/wp-content/uploads/2013/03/Cell-Splitting.pdf

62. http://groups.molbiosci.northwestern.edu/morimoto/research/Protocols/II.%20Eukaryotes/A.%20Cell%20Culture/3b.%20Hemacytometer.pdf
63. http://www.sas.upenn.edu/LabManuals/biol275/Table_of_Contents_files/14-Enumeration.pdf].
64. http://www.biologydiscussion.com/bacteria/6-special-groups-of-gram-negative-bacteria/49847
65. ერისთავი დ., "ანალიზური ქიმიის კურსი" (იონ–სპეციფიკური ანალიზი), ცოდნა, 1964;
66. Германов Н.И. 'Микробиология' - Москва: Просвещение, 1969 - с.227;
67. I. Kranner, R. Beckett, A. Varma(Eds.), "Protocols in Lichenology", Springer, 2002;
68. https://www.vernier.com/files/manuals/no3-bta.pdf
69. მ. ცინცაძე, ნ. გეგეშიძე, ნ. კილასონია, თ. გიორგაძე, "არაორგანული ქიმიის პრაქტიკუმი", გამომც. „ტექნიკური უნივერსიტეტი", ISBN: 978-9941-20-729-7, 2013;
70. გახოკიძე, ა.მ., "ორგანული და ბიოლოგიური ქიმიის პრაქტიკუმი", სამეცნიერო მეთოდკაბინეტის გამომცემლობა. 1954;
71. https://microbeonline.com/preparation-mcfarland-turbidity-standards/
72. http://www.pnas.org/content/113/26/7071
73. http://www.bio-rad.com/webmaster/pdfs/9154_Bio-Gel_P.pdf
74. http://www.disknet.com/indiana_biolab/b038.htm
75. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168160594901651
76. http://www.eurasianjournals.com/index.php/ejac/article/viewFile/138/pdf ;
77. http://www.microbiol.org/wp-content/uploads/2010/07/Sutton.jvt_.2011.17_3.pdf
78. http://www.e-ijaet.org/media/40I10-IJAET1009291-COMPUTATIONAL-APPROACH.pdf
79. "Microbiology practical guide", Springer, 2010;

80. Quantitative Tools for Sustainable Food and Energy in the food chain, Chapter: Chapter 1: "Introduction to predictive microbiology", Publisher: EUROSIS, Editors: Vasilis Valdramidis, Enda Cummins, Jan Van Impe, pp.5-12;
81. Ratkowsky DA, Lowry RK, McMeekin TA, Stokes AN, Chandler RE. Model for bacterial culture growth rate throughout the entire biokinetic temperature range. *Journal of Bacteriology*. 1983;154(3):1222-1226;
82. Robert L. Buchanan, Miriam L. Cygnarowicz, A mathematical approach toward defining and calculating the duration of the lag phase, Food Microbiology, Volume 7, Issue 3, 1990, pages 237-240, ISSN 0740-0020, https://doi.org/10.1016/0740-0020(90)90029-H.
83. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15193801
84. Rodrigues P., "Advances in Applied Microbiology", Volume 72, Elsevier Inc. 2010;
85. http://www.eurasianjournals.com/index.php/ejac/article/viewFile/138/pdf_75
86. Proc. of All. Union Sci, end Technical Conf. on Extraction, Processing and Utilization of Natural Zeolites. Georgia, Gori, 1986;
87. http://docs.resonon.com/spectronon/pika_manual/html/IntroToHyperspectral_include.html
88. Olga Sánchez, "Bioremediation of Wastewaters", Apple Academic Press; 1 edition, 2005.
89. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26940877
90. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26104311
91. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25732258