ს. დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის
ინსტიტუტი

ხელნაწერის უფლებით

ნანა კუპრავა

აზოტის მეტაბოლიზმის ფერმენტების გამოკვლევა მცენარეში დაბალტემპერატურული, ინფიცირებისა და ორგანული პოლუტანტებით გამოწვეული სტრესების პირობებში

დ ი ს ე რ ტ ა ც ი ა

ბიოლოგიის მეცნიერებათა კანდიდატის სამეცნიერო

ხარისხის მოსაპოვებლად სპეციალობით

03.00.04 _ ბიოქიმია

სამეცნიერო ხელმძღვანელი: ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,

თინათინ სადუნიშვილი

თბილისი, 2006

სარჩევი

შესავალი.

თავი I.

ლიტერატურის მიმოხილვა.

1.1 აზოტის შეთვისება მცენარეების მიერ. მაკრო და მიკროელემენტები.

1.2 ამონიუმის ასიმილაციის მეტაბოლური გზები უმაღლეს მცენარეებში.

1.3 გლუტამინსინთეტაზა. მოლეკულური ფორმები, თვისებები და რეგულაცია უმაღლეს მცენარეებში.

1.4 გლუტამატდეჰიდროგენაზა. გავრცელება, კოფერმენტისადმი სპეციფიურობა, თვისებები და რეგულაცია უმაღლეს მცენარეებში.

1.5 მცენარის ადაპტაცია ეკოლოგიური სტრესებისადმი.

1.5.1 ფიტოპათოგენური ბაქტერიებისა და სოკოთი ინფიცირების გავლენა აზოტის მეტაბოლიზმზე.

1.5.2 გარემოს დაბინძურება ორგანული პოლუტანტებით.

თავი II

ექსპერიმენტული ნაწილი.

2. კვლევის ობიექტი და მეთოდები.

2.1 კვლევის ობიექტები.

2.2 მცენარის კულტივირება მიკროელემენტების შემცველ არეზე.

2.3 მცენარის კულტივირება ღია გრუნტში.

2.4 თესლის ინოკულაცია ბაქტერიული სუსპენზიით.

2.5 დაბალტემპერატურული სტრესის რეჟიმი.

2.6 მცენარის დასნებოვნება ფიტოპათოგენური სოკოთი.

2.7 ქსენობიოტიკის გავლენის შესწავლა მცენარეზე.

2.8 სუბუჯრედული ფრაქციების მიღება.

2.9 ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრა.

2.10 .9.1 გლუტამატდეჰიდროგენაზას ჟანგვითი დეზამინირების აქტივობის განსაზღვრა.

2.9.2 გლუტამატდეჰიდროგენაზას აღდგენითი ამინირების აქტივობის განსაზღვრა.

2.9.3 გლუტამინსინთეტაზას აქტივობის განსაზღვრა.

2.10 ცილის რაოდენობის განსაზღვრა.

2.11 ცილების იზოელექტროფოკუსირება.

2.12 ელექტროფორეზი პოლიაკრილამიდის გრადიენტულ გელში.

2.13 საკვლევი ობიექტის ფესვის უჯრედის ულტრასტრუქტურული ანალიზის მეთოდი.

2.14 მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება.

თავი III

მიღებული შედეგები და მათი განხილვა.

3.1 აზოტის მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების –გლუტამატდეჰიდრო გენაზას და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები სოიასა და სიმინდის ახალგაზრდა აღმონაცენებში.

3.2 ღია გრუნტში ამონიუმის ნიტრატის აგროტექნიკურ დოზაზე გაზრდილი სიმინდის მცენარეში ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტების გამოკვლევა.

3.3 მიკროელემენტების გავლენა მარცვლოვანი და პარკოსანი მცენარეების ახალგაზრდა აღმონაცენების ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტებზე.

3.4 რიზობიუმისა და თავისუფლად მცხოვრები აზოტმაფიქსირებელი შტამების გავლენა ამონიუმის ასიმილაციასა და მოსავლიანობაზე.

3.5 აზოტის მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების აქტივობის ცვლილება მცენარეებში დაბალტემპერატურული სტრესისა და სოკოთი ინფიცირების პირობებში.

3.6 აზოტის მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების აქტივობები შავი ბაქტერიული სილაქავითა და ბაქტერიული კიბოთი დაავადებულ მცენარეებში.
3.7 ნიტრობენზოლის გავლენა სიმინდისა და სოიას ფესვებში ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტებსა და უჯრედის ულტრასტრუქტურაზე.
3.8 ტრინიტროტოლუოლის გავლენა სიმინდისა და სოიას ნაზარდებში აზოტის ცვლის ფერმენტებზე.
დასკვნები.
ლიტერატურა.

შესავალი

პრობლემის აქტუალობა

დედამიწაზე სიცოცხლეს ბიოსფეროში მიმდინარე ორი უმნიშვნელოვანესი პროცესი ფოტოსინთეზი და მოლეკულური აზოტის ფიქსაცია განსაზღვრავს. ამ პროცესებში კი მცენარეს ცენტრალური ადგილი უკავია, რადგან სწორედ მწვანე მცენარეები აწარმოებენ ფოტოსინთეზს და მხოლოდ მათ შესწევთ უნარი შეითვისონ არაორგანული აზოტი და ჩართონ ის ორგანული ნაერთების შედგენილობაში (კვესიტაძე, 2000). მცენარე არის ერთადერთი ორგანიზმი ჩვენს პლანეტაზე, რომელიც ახდენს ოცივე ამინომჟავის ბიოსინთეზს.

მცენარის პროდუქტიულობა ნიადაგში აზოტის შეთვისებადი ფორმების არსებობითა და რაოდენობითაა განპირობებული. მიუხედავად იმისა, რომ აზოტის უდიდეს ნაწილს მცენარეები პარკოსან კულტურებთან სიმბიოზურად მცხოვრები აზოტმაფიქსირებელი მიკროორგანიზმების მიერ მოლეკულური აზოტის ფიქსაციით ღებულობენ, მაინც

არსებობს მისი დეფიციტი. ამიტომ აუცილებელია მცენარეების უზრუნველყოფა დამატებითი ბმული აზოტის ფორმებით.

მცენარეთა მიერ აზოტის შეთვისება საბოლოო ჯამში დაიყვანება ამონიუმის ასიმილაციაზე, რომელიც აზოტოვანი ნაერთების ძირითადი წყაროების – ნიტრატისა და შარდოვანას, ან მოლეკულური აზოტის ფიქსაციის შედეგად წარმოიქმნება. ამონიუმის ასიმილაციის შედეგად, რომელსაც ფერმენტები გლუტამატდეჰიდროგენაზა (გდჰ) და გლუტამატსინთაზასთან ერთად გლუტამინსინთეტაზა (გს) აკატალიზებენ, ხდება ამონიუმის არაორგანული აზოტის ჩართვა გლუტამინის მჟავაში α-ამინური ფორმით. გლუტამინის მჟავა თავის მხრივ წარმოადგენს ამინოჯგუფის დონორს სხვა ამინომჟავების ბიოსინთეზისათვის და ამდენად მას ცენტრალური როლი უკავია ამინომჟავების მეტაბოლიზმში (Sadunisvili et. al., 1995). გასაგებია, რომგს და გდჰ ასრულებენ მნიშვნელოვან როლს აზოტითა და ენერგიით მცენარის რაციონალურად მომარაგებასა და ნივთიერებათა ცვლაში (Miflin et. al., 2002). ამიტომ ამონიუმის ასიმილაციისა და მასში მონაწილე ფერმენტების შესწავლას უდიდესი მნიშვნელობა აქვს ცილის დეფიციტისა და მისი სრულფასოვნების პრობლემის გადაწყვეტაში, რაც კაცობრიობის ერთერთი უმწვავესი პრობლემაა.

ადამიანის მოღვაწეობა დიდი ხანია გასცდა ბიოსფეროს პროცესების დონეს. ცივილიზაციის მანძილზე შექმნილი ყოველი ახალი ნაერთი და აგრეთვე მათი აბიოტური და ბიოტური გარდაქმნის შედეგად მიღებული პროდუქტები ხშირად ტოქსიკური ბუნებისაა. ეკოსისტემის მცენარეულ საფარზე მოქმედი გარემოს ტოქსიურ ნაერთთა სტაბილურობა და არსებობის ხანგრძლივობა განსაზღვრულია მათი აბიოტური გარდაქმნით ან მცენარეებით მათი დეტოქსიკაციით, რაც გულისხმობს მცენარეში პოლუტანტის შეღწევას და ღრმა გარდაქმნას უჯრედისათვის ტიპიური მეტაბოლიტების წარმოქმნით (Korte et. al., 2000). დეტოქსიკაციის პროცესში მონაწილეობენ ფერმენტები, რომლებიც აკატალიზებენ კონიუგაციისა და ჟანგვის რეაქციებს (Kvesitadze et al, .2005, 2006). სავარაუდოდ, ტოქსიკური ნივთიერებების ღრმა გარდაქმნის მრავალეტაპიან პროცესში არაპირდაპირ ერთვება პლასტიკური, ენერგეტიკული და აზოტოვანი ცვლის

სხვა მრავალი ფერმენტიც, რომლებიც მცენარეულ უჯრედს დამატებითი ენერგიით, აუცილებელი ენდოგენური ნაერთებით და მეორადი მეტაბოლიტებით ამარაგებენ (Kvesitadze et al, 2001, Chrikishvili et al., 2006). ამასთან პრაქტიკულად არ არსებობს მონაცემები მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების მონაწილეობაზე უჯრედში შეჭრილი ქსენობიოტიკის დეტოქსიკაციის პროცესში.

გამომდინარე ზემოთაღნიშნულიდან, მნიშვნელოვანია აზოტის მეტაბოლიზმში, როგორც მცენარისათვის (და არა მარტო მისთვის) უმნიშვნელოვანეს პროცესში მონაწილე ფერმენტების გამოკვლევა გარემოს არახელსაყრელ პირობებში, როგორიცაა მაგალითად, დაბალტემპერატურული, ინფიცირებისა და ორგანული პოლუტანტებით გამოწვეული სტრესები.

ამ საკითხების შესწავლა საშუალებას მოგვცემს გავარკვიოთ აზოტის ცვლის, და ზოგადად ძირითადი მეტაბოლიზმის პროცესებში მონაწილე ფერმენტების მონაწილეობა მცენარის არახელსაყრელ გარემოსთან ადაპტაციის პროცესში.

კვლევის მიზანი და ამოცანები

ჩატარებული სამუშაოს მიზანს წარმოადგენდა მცენარეში აზოტის მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების: გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობების ცვლილებების შესწავლა დაბალტემპერატურული, ბაქტერიითა და სოკოთი ინფიცირებისა და ორგანული პოლუტანტებით გამოწვეული სტრესების პირობებში.

მიზნის შესაბამისად დასახულ იქნა შემდეგი ამოცანები:

_ შეგვესწავლა საქართველოში გავრცელებული სოიას სხვადასხვა ჯიშისა და სიმინდის ახალგაზრდა აღმონაცენების გს და გდჰ აქტივობები და ცილის რაოდენობა მცენარის ასაკის მატების პარალელურად.

_ დაგვედგინა ღია გრუნტში მინერალური სასუქის აგროტექნიკური დოზის ფონზე გაზრდილი მცენარეების ვეგეტატიურ ორგანოებში აზოტის ცვლის ძირითადი ფერ-მენტების აქტივობები.

_ შეგვესწავლა მიკროელემენტების Mg^{2+}, Mn^{2+} და Zn^{2+} პროფილაქტიკური დოზების გავლენა აზოტის ასიმილაციის ფერმენტების აქტივობებზე;

_ გამოგვევლინა სიმბიოზური და თავისუფლად მცხოვრები აზოტმაფიქსირებელი მიკროორგანიზმებით და აქტინომიცეტებით ინოკულაციის გავლენა სოიას ვეგეტატიურ ორგანოებში აზოტის ასიმილაციის ფერმენტების აქტივობებზე და ცილის შემცველობაზე;

_ შეგვესწავლა გს და გდჰ აქტივობების ცვლილებები მცენარეში დაბალტემპერატურული სტრესის, აგრეთვე ფიტოპათოგენური სოკოთი – *Fuzarium* და ბაქტერიებით *Corynebacterium michiganense* და – *Xanthomonas vesicatoria* ინფიცირებისა და დაავადების პირობებში;

_ დაგვედგინა აზოტის მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების მონაწილეობა უჯრედში შეჭრილი ქსენობიოტიკის დეტოქსიკაციის პროცესში, ფერმენტების აქტივობების დონისა და ულტრასტრუქტურული ცვლილებების შესწავლის საფუძველზე.

თავი I

ლიტერატურის მიმოხილვა

1.1 აზოტის შეთვისება მცენარეების მიერ. მაკრო- და მიკროელემენტები

ფოტოსინთეზი ბიოსფეროში მიმდინარე ერთადერთი პროცესია, რომელიც გარედან_მზის ენერგიის ხარჯზე ახდენს ბიოსფეროს ენერგიის გადიდებას, რის შედეგადაც უზრუნველყოფს როგორც მცენარეების, ისე ყველა ჰეტეროტროფული ორგანიზმების მათ შორის ადამიანის, არსებობას. ფოტოსინთეზის მეშვეობოთ უზრუნველყოფილია ნივთიერებათა სტაბილური წრებრუნვა და ატმოსფეროს შემადგენლობის შენარჩუნება, რომელიც აუცილებელია სიცოცხლისათვის დედამიწაზე. მწვანე მცენარეები მზის ენერგიის გამოყენებით ასინთეზებენ ორგანულ ნივთიერებებს, რომლის ნაწილს იყენებენ ჰეტეროტროფები და შლიან მათ. დაშლის საბოლოო პროდუქტებს კვლავ მცენარეები იყენებენ ორგანულ ნაერთთა სინთეზისათვის.

ბოისფეროში მიმდინარე ბიოგენურ ელემენტთა წრებრუნვაში ყველაზე რთულად აზოტის წრებრუნვა მიმდინარეობს. მიუხედავად ამისა, იგი წინააღმდეგობის გარეშე სწრაფად ხორციელდება. ატმოსფეროში არსებული მოლეკულური აზოტი ელექტრონული განმუხტვისას ჟანგბადთან წარმოქმნის შენაერთს, რომელიც წვიმის წყლით ხვდება ნიადაგში, საიდანაც მას მცენარე ითვისებს ფესვებით (Грин 1990).

ცოცხალი ორგანიზმები ძლიერ განსხვავდებიან აზოტის შეთვისების ფორმებით და ითვისებენ მას მხოლდ ბმულ მდგომარეობაში ნაერთის სახით (Ленинджер 1985). მცენარეს შეუძლია აზოტის წყაროდ გამოიყენოს ამონიაკი ან ხსნადი ნიტრატები. მხოლოდ მცირე რაოდენობა ორგანიზმებს შესწევთ უნარი შეითვისონ _ დააფიქსირონ აირადი აზოტი, რაც ატმოსფეროს 80%-ს შეადგენს. მაგრამ, რადგან დედამიწის ქერქში ძალიან მცირეა არაორგანული აზოტი ხსნადი მარილების სახით, ყველა ცოცხალი ორგანიზმი საბოლოო ჯამში დამოკიდებულია ატმოსფეროს აზოტზე და იმ ორგანიზმებზე, რომელთაც მისი ფიქსირების უნარი გააჩნიათ.

ყველაზე დიდი რაოდენობით აზოტი აზოტის მაფიქსირებელი ბაქტერიების მეშვეობით ხვდება ეკოსისტემაში. ცილებისა და აზოტის შემცველი სხვა ორგანული ნივთიერებების დაშლის შედეგად აზოტი კვლავ გარემოს უბრუნდება. ატმოსფერული აზოტის ფიქსაციის ბიოქიმიური პროცესი ზოგიერთი სახის მიკროორგანიზმებით, აქტინომიცეტებითა და წყალმცენარეებით განსაზღვრევენ დედამიწაზე აზოტის ცვლას.

ბიოლოგიურ ფიქსაცია ბმული აზოტის წარმოქმნის ძირითადი შესაძლებლობაა ჩვენს პლანეტაზე. დედამიწაზე სიცოცხლის არსებობისათვის, მასშტაბურობით და მნიშვნელობით ფოტოსინთეზის გარდა ამ პროცესს ბადალი არ მოეპოვება (კვესიტაძე, კვესიტაძე 1999). მასში მონაწილეობენ როგორც მიკროორგანიზმები, ასევე უმაღლესი მცენარეები _ ძირითადად პარკოსნები, ზოგიერთ აზოტმაფიქსირებელ ბაქტერიასთან (კოჟრის ბაქტერიები) სიმბიოზში. ამ პროცესის შედეგად, მოლეკულური აზოტი ორგანული სამყაროს ნაწილი ხდება. კოჟრის ბაქტერიები პარკოსნებთან სიმბიოზში ერთ წელიწადში 100-300 კგ ბმული აზოტით ამდიდრებენ ერთ ჰექტარ მიწას. თავისუფლად მცხოვრები ბაქტერიების ეფექტურობა 100-ჯერ ნაკლებია.

ეჭვგარეშეა რომ აზოტის ცვლაში ყველაზე დიდი წვლილი შეაქვთ პარკოსანი მცენარეებისა და კოჟრის ბაქტერიების სიმბიონტებს, თავისუფლად მცხობრებ აზოტფიქსატორებს და ზოგიერთ აზოტმაფიქსირებელ წყალმცენარეს.

ბიოლოგიური აზოტფიქსაცია გლობალური პროცესია, რომელიც უზრუნველყოფს სიცოცხლეს დედამიწაზე (Newton, 1994). ატმოსფეროში არსებული თავისუფალი აზოტის NH_4^+ –მდე აღდგენის უნარი გამოვლენილია პროკარიოტების ყველა ძირითად ჯგუფებში. აზოტფიქსატორებთან სიმბიოზური თანაარსებობა მნიშვნელოვნად აუმჯობესებს როგორც მასპინძელი ორგანიზმის, ასევე მიკროსიმბიონტის ეკოლოგიურ პოტენციალს.

ასეთი სიმბიოზების ჩამოყალიბება მრავალ მცენარეს და სოკოს ახასიათებს, რაც მკვეთრად ზრდის აზოტფიქსაციის ინტენსივობას. მიკროსიმბიონტი იყენებს მასპინძელი ორგანიზმის მეტაბოლურ შესაძლებლობებს აზოტის მოლეკულაში სამმაგი ბმის გასაწყვეტადა და წარმოქმნილი ამონიუმისაგან სწრაფ გათავისუფლებაში. განსაკუთრებით ინტენსიურად აზოტფიქსაცია მიმდინარეობს ენდოსიმბიოზების შემთხვევაში, როდესაც მიკროორგანიზმი აღწევს პატრონის ქსოვილებსა და უჯრედებში, რაც განაპირობებს მათ მჭიდრო მეტაბოლურ ინტეგრაციას.

მიკრობულ-მცენარეულ სიმბიოზებს შორის ყველაზე კარგად შესწავლილია სიმბიოზები, წარმოქმნილი პარკოსანი მცენარეებისა და კოჟრის ბაქტერიების მიერ. ეს განპირობებულია მიკროსიმბიონტების ეხ პლანტა კულტივირების სიადვილით, მცენარეებში მორფოლოგიურად გამოხატული სიმბიოზური ორგანოების – კოჟრების წარმოქმნითა და სიმბიოზის ბიოლოგიური ეფექტის გაზომვის შესაძლებლობით (ატმოსფეროდან დაფიქსირებული აზოტის რაოდენობა, მცენარეული მასის ნამატი).

მრავალი პარკოსანი მცენარის ბაქტერიებით ინფიცირება ფესვის ბუსუსების გავლით ხდება. მცენარეულ უჯრედში შეღწევის შემდეგ ბაქტერიები სწრაფად დიფერენცირდებიან სიმბიოზურ ფორმებად - ბაქტეროიდებად, რომელთა ზომებიც 3-5-ჯერ აღემატება თავისუფლადმცხოვრები ღჰიზობიუმ-ის ბაქტერიების ზომებს (Kijne J..M.1992). ქსოვილს, რომელიც დასნებოვნებულია ბაქტერიებით მოწითალო ფერი აქვს რაც აიხსნება იმით, რომ უჯრედები ჰემოგლობინის მონატესავე პიგმენტს, ლეგჰემოგლობინს შეიცავს.

მოლეკულური აზოტის ფიქსაციის უნარი კი მხოლოდ ლეგჰემოგლობინის შემცველ კოჟრებს გააჩნიათ. პიგმენტის არსებობა სიმბიოზის ბრწყინვალე მაგალითია. ლეგჰემოგლობინის საშუალებით ხორციელდება ბაქტეროიდების ჟანგბადით უზრუნველყოფა. პარკოსანი მცენარეები შეიცავენ გლიკოპროტეინებს და ლექტინებს რომლებიც სპეციფიურად უკავშირდებიან ღჰიზობიუმ-ის გვარის ბაქტერიების პოლისაქარიდებს. მათი კონტაქტი განაპირობებს მცენარის ინფიცირებასაც, რაც შემდგომში ჭეშმარიტ სიმბიოზში გადადის (Dazzo, 1981). მრავალი ავტორის მიერ ნაჩვენებია ასევე არამხოლოდ სპეციფიური (ე.ი. კოჟრის წარმომქმნელი), არამედ ასევე არასპეციფიური ბაქტერიების შტამების საკმაოდ მყარი მიმაგრების უნარი მცენარის ფესვის ბუსუსებზე (Pueppke et al., 1980; Wong, Shentheram, 1984; Huges, Elkan, 1985)

ბაქტეროიდებში ფიქსირებული აზოტი ამონიუმის იონების ფორმით აღწევს მცენარეული უჯრედის ციტოპლაზმაში, სადაც მაშინვე ასიმილირდება მცენარეული ფერმენტებით. დღეისათვის ნაჩვენებია ოთხი ძირითადი ფერმენტის არსებობა, რომლებიც აკატალიზებენ ამონიუმის ჩართვას ამინომჟავებში - გლუტამინში, გლუტამატში, ასპარტატსა და ასპარაგინში. ეს ფერმენტებია - გლუტამინსინთეტაზა, ნადH-დამოკიდებული გლუტამატსინთაზა, ასპარტატამინოტრანსფერაზა და ასპარაგინსინთეტაზა. ამონიუმის პირველადი ასიმილაციისათვის საჭირო ნახშირბადოვანი ჩონჩხით მომარაგებისათვის ამ ფერმენტულ პროცესებში ერთვება ოქსალოაცეტატი და 2-კეტოგლუტარატი, რომლებიც წარმოიქმნებიან ფოსფოენოლპირუვატკარბოქსილაზასა და მალატდეჰიდროგენაზას მიერ კატალიზებული რეაქციებით. ეს ფერმენტები განაპირობებენ აზოტისა და ნახშირბადის გადანაწილებას დიკარბონმჟავებსა (სუბსტრატი ბაქტერიოდებისათვის) და ამინომჟავებს (აზოტის ასიმილაციის ძირითადი ფორმა მცენარეებში) შორის. ნებისმიერი წარმოშობის: ნიტრატული, აზოტფიქსაციის, ფოტოსუნთქვის ან ასპარაგინისა და ურეიდების კატაბოლიზმის შედეგად წარმოქმნილი ამონიუმის უტილიზაციის ძირითად ფერმენტს გლუტამინსინთეტაზა წარმოადგენს. კოჟრების წარმოქმნისას გს აქტივობის მრავალჯერადი მატება აღნიშნულია ბევრ პარკოსან მცენარეში (Robert, Wong, 1986;

Sengupta-Gopalan at al., 1986; Egli et al., 1989). ფერმენტი ლოკალიზებულია ძირითადად ციტოპლაზმაში, მცირე რაოდენობით კი ნანახია პლასტიდებშიც და ასევე პერიბაქტერიოდულ მემბრანებზე (Ortega et al., 1988; Brangeon et al. 1989). საერთოდ ფერმანტის აქტივობის დაახლოებით 95% დარეგისრტირებულია ციტოპლაზმაში (Miflin, Cullimore 1984).

ამგვარად, ფიქსირებული აზოტის პირველად ასიმილაციაში მონაწილეობენ როგორც აზოტის, ისე ნახშირბადის მეტაბოლიზმის ფერმენტები. მათი ურთიერთდამოკიდებულება კი განსაზღვრავს ფიქსაციის ეფექტურობასა და მცენარეების მიერ სიმბიოზური აზოტის შეთვისებას (Streeter,1991) რაც შესაძლებელი ხდება როგორც ციტოპლაზმაში, ასევე მცენარეული უჯრედის სხვადასხვა კომპარტმენტში _ მიტოქონდრიებში, პლასტიდებსა და გლიოქსისომებში ლოკალიზებული ფერმენტების მუშაობის შედეგად.

სიმბიოზური აზოტფიქსაცია უშუალო კავშირშია პარკოსნებში C და N-ნაერთების მეტაბოლიზმთან. ამასთან სიმბიოზური აზოტფიქსაცია ეს არა მხოლოდ აზოტოვანი კვების ერთერთი ხერხია, რაც უზრუნველყოფს მცენარის მაღალ პროდუქტიულობას, არამედ აგრეთვე მცენარეებში მეტაბოლური პროცესების ხელშემწყობი ფაქტორია. ეს კი მცენარეს გარემო პირობების ცვლილებებისადმი წარმატებით შეგუების საშუალებას აძლევს (Тихонович 1998). ამდენად, აზოტფიქსაციის ეფექტურობის გაზრდის ერთ-ერთი მიმართულებაა პარკოსანი მცენარეების დასნებოვნება ეფექტური, აზოტფიქსაციის გაზრდილი უნარის მქონე შტამებით.

ცნობილია, რომ მოლეკულურ აზოტს ინტენსიურად აფიქსირებენ როგორც ღჰიზობიუმ–ის გვარის კოჟრის ბაქტერიები, ასევე (*Franckia*-ს გვარის) აქტინომიცეტები, რომლებსაც სიმბიონტებად იყენებენ არაპარკოსანი მცენარეები (Шлегель 1997). არსებული წარმოდგენებით აზოტის ფიქსაცია შეუძლიათ *Azotobacter* -ის და *Clostridium*-ის ცალკეული წარმომადგენლებს. უმაღლეს მცენარეთა ფესვებთან ართგვარ ასოციანტებს წარმოქმნიან *Azospirillum*-ის სხვადასხვა წარმომადგენლები. ისინი ადვილად აინფიცირებენ მარცვლოვნების ფესვთა სისტემას, ასევე დადებითად მოქმედებენ მცენარის

ზრდაგანვითარებაზე და ხელს უწყობენ მცენარეს ტოქსიკური ნაერთების დაშლასა და ფიტოპათოგენებისაგან დაცვაში (Игнатов 1998).

კაცობრიობის ერთ-ერთი ყველაზე მწვავე პრობლემა ცილის დეფიციტია. ყველა უმაღლესმა ცხოველებმა მათთვის აუცილებელი აზოტი უნდა შეითვისონ ამინომჟავების სახით. ადამიანის რაციონში მცენარეული ცილები ზოგიერთი შეუცვლელი ამინომჟავების იდეალურ წყაროს წარმოადგენენ, მათ შორის პარკოსნების და განსაკუთრებით სოიას ამინომჟავური ანაკრები, მცენარეული ცილის წყაროებთან შედარებით ყველაზე სრულყოფილთა შორისაა და ემსგავსება მაღალხარისხიან ცხოველური წარმოშობის ცილებს. ამრიგად, ადამიანისა და ცხოველის საკვები ცილის ძირითად წყაროდ დედამიწაზე კვლავ მცენარეები რჩება, რადგან ცილის წარმომქმნელი ამინომჟავების ნახევარი მხოლოდ მათ მიერ სინთეზირდება. ამდენად ცილის დეფიციტი, რომლის ძირითადი მიზეზი აზოტის უკმარისობაა, თანამედროვეობის ერთერთი უმწვავესი პრობლემაა და მისი გადაჭრა მოითხოვს მეცნიერთა და პრაქტიკოსთა ძალისხმევას. საქართველოში კულრივირებული სოიას ქართულ ჯიშებში შესწავლილია ცილის შემცველობა და მათი ამინომჟავური შედგენილობა, შემუშავებულია საკვები ცილოვანი პროდუქტების მიღების მეთოდი რომლის ცილოვანი და ამინომჟავური შემადგენლობა აკმაყოფილებს საერთაშორისო სტანდარტების მოთხოვნებს (Betsiashvili et al., 2002, 2003).

მცენარეებს რომ შეეძლოთ ერთი ჰექტარი მიწის ზედაპირიდან (რომელიც 80000ტონა აზოტს შეიცავს) აზოტის შეთვისება ეს მარაგი საკმარისი იქნებოდა 1 ჰექტარიდან ნახევარი მილიონი წლის განმავლობაში 30 ც. მარცვლოვნების მისაღებად. მაგრამ მცენარეებს ესჭიროებათ აზოტი მინერალური ნაერთების.

სახით და მიუხედავად მოლეკულურ აზოტთან მათი მუდმივი თანაარსებობისა საკმაოდ განიცდიან “აზოტოვან შიმშილს” (Красильников 74). Aამიტომ მცენარეების მოსავლიანობის ზრდა და პროდუქტიულობის ამაღლება დაკავშირებულია პირველ რიგში აზოტოვანი კვების გაუმჯობესებასთან. ყოველწლიურად სოფლის-მეურნეობის პროდუქციისათვის საჭიროა დაახლოებით 100 —110მლნ. ტ. აზოტი. აზოტოვანი მინერალურური სასუქებით მარაგდება მხოლოდ 30%. აზოტს, რომელსაც ადამიანები და

ცხოველები იყენებენ ცხოველური და მცენარეული წარმოშობის ცილების სახით, მცენარეები მოიხმარენ აზოტმჟავას მარილებისა და ამონიუმის იონების სახით (Игнатов 1998). როგორც ავღნიშნეთ მცენარეების მიერ ნიადაგიდან შეთვისებული ნიტრატებიდან აღდგენილი ამონიუმის იონის მოხმარება, პირველადი ამინომჟავების ბიოსინთეზთან დაკავშირებული ფერმენტებით ხორციელდება. აზოტის როლი (კვესიტაძე, კვესიტაძე 1999). მცენარის ზრდა-განვითარებასა და მეტაბოლურ პროცესებში ბიოქიმიურად კარგადაა შესწავლილი. იგი მრავალი დაბალმოლეკულური ბიომოლეკულების შედგენილობაში შედის, გარდა ამისა მაკრომოლეკულების, კერძოდ, ცილების აუცილებელი კომპონენტია, როგორც ამინომჟავების შემადგენელი ელემენტი. დაღუპული მცენარეების ცილებში შემავალი ამინომჟავები პირდაპირ რომ ერთვებოდნენ ახლად სინთეზირებული ცილების შედგენილობაში, ეს მცენარის მოვლა-პატრონობაში მრავალ აგროტექნიკურ პრობლემას გაამარტივებდა. მაგრამ ამინომჟავები ნიადაგში იშლება ამონიაკამდე და ნიტრატიონებამდე (NO_3^-). შემდგომ ნიტრატები სპეციფიკური ბაქტერიების _ დენიტრიფიკატორების მოქმედებით იშლება მოლეკულურ აზოტამდე (N_2). ეს უკანასკნელი ატმოსფეროს უბრუნდება და ამით მთავრდება აზოტის ბრუნვის ციკლი ბუნებაში. აზოტის დეფიციტის მნიშვნელოვანი კომპენსირება შესაძლებელია ძირითადად აზოტის მარაგის ხარჯზე ბიოლოგიური გზით, ნიადაგში აკუმულირებული აზოტმაფიქსირებელი მიკროორგანიზმებით და ასევე მინერალური ნივთიერებებით მცენარის რაციონალურად უზრუნველყოფით. ნიადაგის მინერალური აზოტოვანი ნაერთებით გამდიდრების ყველაზე ეფექტურ ხერხს მათში ქიმიური სასუქების შეტანა წარმოადგენს. მნიშვნელოვანია ისიც, რომ მცენარეები ითვისებენ აზოტს მხოლოდ იონურ ფორმაში.Aამიტომ აზოტის შეტანა ნიადაგში ხდება ამონიუმის (NH_4^+) ან ნიტრატიონის (NO_3^-) სახით. ხშირად ორივე იონი შეაქვთ ამონიუმის ნიტრატის სახით (NH_4NO_3). ფართოდ გამოიყენება შარდოვანა $CO(NH)_2$ და მისი ზოგიერთი წარმოებული (დიდებულიძე 1997).

მინერალური ნივთიერებებით მცენარის კვება ერთ-ერთი ის გარეგანი პირობათაგანია, რომელიც ყველაზე ადვილად ექვემდებარება ცვალებადობას და

კონტროლს მინდორში მცენარის მოყვანისას. ამ გზით მცენარეები ითვისებენ ქიმიურ ელემენტთა მთელ დიაპაზონს. მათ შორის ძირითადია მიკრო და მაკროელემენტები. კვების პირობების როლი და ცალკეული ელემენტების მნიშვნელობა მცენარის სიცოცხლეში განისაზღვრება პირველყოვლისა იმით, რომ მცენარეში ნიადაგიდან შესული საკვები ნივთიერებები შედიან ისეთ ორგანულ ნაერთთა შედგენილობაში, რომლებსაც დიდი მნიშვნელობა აქვთ ორგანიზმების ცხოველქმედებაში (Анспок 1990).

მინერალურ ელემენტებს შორის ზრდის ყველაზე ძლიერი არაჰორმონალური სტიმულატორი აზოტია, რომელიც საჭიროა ამინომჟავების, პურინული და პირიმიდინული ფუძეების ბიოსინთეზისათვის, რომელთაგან წარმოიქმნება ცილები და ნუკლეინის მჟავები, რაც ალკალოიდების და სხვა ნაერთების ბიოსინთეზისათვის ამოსავალი ნაერთებია. აზოტი შედის აგრეთვე ქლოროფილის, ვიტამინების, ჰორმონების შედგენილობაში. ნუკლეინმჟავათა, რიგი ცილების, ფერმენტების, ფოსფატიდების და სხვა ნივთიერების შენებაში მონაწილეობს ასევე ფოსფორი. ენერგიის ცვლა და გადატანა უმჭიდროესადაა დაკავშირებული ნართებთან, რომელთა შედგენილობაში მოიპოვება ფოსფორმჟავა. ფოსფორის შემცველი ნაერთები აქტიურ მონაწილეობას იღებენ ფოტოსინთეზის, სუნთქვის პროცესებში, ცილების, ლიპიდებისა და ნახშირწყლების ბიოსინთეზში. გოგირდს შეიცავენ ამინომჟავები, ცილები, ზოგიერთი ვიტამინი და ფერმენტი. სტეროიდებისა და სხვა ნაერთების ბიოსინთეზი მცენარეებში მიმდინარეობს გოგირდის შემცველ ნივთიერებათა მონაწილეობით. ნაერთები, რომლებიც შედიან ეგრეთწოდებულ სულფჰიდრილური – ჯგუფები, იწვევენ რიგი ფერმენტის გააქტივებას, რომლებიც აწარმოებენ ნივთიერებათა ცვლის მრავალი რეაქციის კატალიზს. კალიუმი და კალციუმი უშუალოდ არ მონაწილეობენ მცენარეებში ორგანულ ნაერთთა წარმოქმნაში, მაგრამ ეს ელემენტები მნიშვნელოვანი რაოდენობით აუცილებელია მცენარისათვის, რამდენადაც ისინი იწვევენ სუნთქვის ცილების, ნახშირწყლების ბიოსინთეზის რეგულაციას და ა. შ. (Фатеев 2005).

მაგნიუმი შედის ქლოროფილის შედგენილობაში, აძლიერებს ცილების, ნახშირწყლების, ლიპიდებისა და სხვა ნივთიერებათა სინთეზს. რკინა მანაწილეობს

ქლოროფილის წარმოქმნაში, აგრეთვე შედის შიგ სუნთქვის ფერმენტებში. მიკროელემენტები (მაგალითად: მოლიბდენი, მანგანუმი, სპილენძი და სხვა) მეტად მნიშვნელოვან როლს ასრულებენ მცენარეთა სიცოცხლეში, რამდენადაც შედიან ფერმენტების შედგენილობაში, რომლებიც იწვევენ ნივთიერებათა ცვლის პროცესების კატალიზს (Егоров 2006). მცენარეებში მიკროელემანტების არსებობა საშუალებას აძლევს იმ ფერმანტების მთელი სპექტრის სინთეზირებას რომლებიც მცენარეს ენერგიის, წყლისა და საკვების (N,P,K) უფრო ინტენსიურად გამოყენებას უზრუნველყოფს. მიკროელემენტებისა და ფერმენტების საფუძველზე იმატებს ქსოვილთა აღდგენითი აქტივობა და დაავადებებისადმი წინააღმდეგობის გაწევის უნარი; მიკროელემენტები წარმოადგენენ ისეთ ნივთიერებებს რომლებიც ამაღლებენ იმუნიტეტს მცენარეებში. მათი უკმარისობით გამოწვეულია მცენერეთა ფიზიოლოგიური დეპრესიის განვითარება და პარაზიტული დაავადებებისადმი ზოგადი მგრძნობელობის დაქვეითება. მიკროელემენტების უმრავლესობა მრავალი ბიოქიმიური რეაქციების აქტიური კატალიზატორია. თავისი საოცარი თვისებებით და უმცირესი დოზით შეუძლიათ ძლიერი ზემოქმედება მოახდინონ სასიცოცხლო პროცესების მიმდინარეობაზე, რითაც საოცრად ემსგავსებიან ფერმენტებს. ფერმენტებთან მათი კომპოზიცია მნიშვნელოვნად ზრდის კატალიზურ თვისებებს (Тарасов1980).

დადგენილია, რომ მინერალური კვების ელემენტები გავლენას ახდენენ არა მარტო მცენარეთა მოსავალზე და ხარისხზე, არამედ მოქმედებენ ფერმენტულ აქტივობაზე. კვების ამა თუ იმ ელემენტით მომარაგების გაუმჯობესებით მცენარის ზრდისა და განვითარების სხვადასხვა ფაზაზე ფერმენტული სისტემის აქტივობის ცვლილების გზით შეიძლება ნივთიერებათა ცვლის განსაზღვრული რგოლების გაძლიერება ან შესუსტება და მცენარეებში ამა თუ იმ ქიმიური ნაერთის დაგროვება (პლეშკოვი 1971). ცნობილია, რომ ზოგი ფერმენტი მოითხოვს სხვადასხვა არაორგანული ან მარტივი ორგანული იონის თანამყოფობას. უფრო ხშირად კი სათანადო იონის დამატებით ფერმენტების აქტივობა იზრდება. როგორც წესი, გამააქტივებელი კათიონები სპეციფიკური არიან სხვადასხვა ხარისხით _ ზოგის შეცვლა სხვა რომელიმე კათიონით შეუძლებელია. ანიონების მიმართ

ფერმენტები გაცილებით მომთხოვნი არიან. რაიმე მკვეთრი კანონზომიერი კავშირი მეტალ-იონის ქიმიურ და გეომეტრიულ თვისებებსა და მათი ფერმენტისადმი გამააქტივებელ მოქმედებას შორის დადგენილი არ არის. მაგალითად, Mg^{2+} უმრავლესი კინაზებისა და სინთეტაზების აქტივატორია. ამ აქტივატორების შეცვლა შესაძლებელია Mn^{2+}–ით. ქიმიური თვისებებით ისინი დიდად განსხვავდებიან ერთმანეთისაგან, ხოლო იონური რადიუსები მსგავსი აქვთ. განსხვავება იონებს შორის გამოიხატება აგრეთვე ფერმენტის გააქტივების სისწრაფეზე. Mg^{2+} სწრაფად ააქტივებს ფერმენტს, სამაგიეროდ Mn^{2+}, Co^{2+} და Li^{2+} ხშირად მოითხოვენ ფერმანტთან ხანგრძლივ პრეინკუბაციას. თუ ფერმენტი აქტიურია მხოლოდ შესაფერისი მეტალ-იონის თანამყოფობისას, სავარაუდოთ, ამ შემთხვევაში მეტალ-იონი უკავშირდება ფერმენტის აქტიურ ცენტრს და ქმნის ხიდაკს ფერმენტსა და სუბსტრატს შორის (ახვლედიანი 1980).

აზოტის ასიმილაციის გლუტამატსინთაზური ციკლის პირველი წამყვანი ფერმენტი გლუტამინსინთაზა აკატალიზებს გლუტამინის მჟავის ამინირებას გლუტამინში. ამ რეაქციაში მონაწილეობენ ატფ და ორვალენტიანი მეტალის კათიონები, რომელთაგანაც ფერმენტი უპირატესობას Mg^{2+}ანიჭებს. მანგანუმთან ფერმენტის აქტივობა გაცილებით ნაკლებია (Евстигнеева 1988). გს აქტივობა ამ ორი მეტალის იონის თანაობისას ძლიერ ვარირებს. ყველაზე დიდი სხვაობა კოფაქტორის მიერ გამოვლენილ სპეციფიურობაში შესწავლილი გს-ებიდან დამახასიათებელია გოგრის ფერმენტისათვის (Джохаридзе и др., 1979).

ერთ და ორვალენტიან მეტალებს აკისრიათ ალოსტერული აქტივატორების ფუნქცია. ასე ნატიური გს, რომალიც შედგება 12 სუბერთეულისაგან შეიცავს მანგანუმს. მანგანუმის მოშორების შემდეგ ფერმენტის კომპაქტური თითქმის სფერული მოლეკულა გადადის ასიმეტრიულ არააქტიურ ფორმაში. ამასთან მოლეკულის დისოციაცია სუბერთეულებად არ ხდება. აქტიურ ფორმაში გადასვლის უკუ პროცესი მიმდინარეობს ორვალენტიანი მეტალის იონების მოქმედებით და შედგება ორი სტადიისაგან. პირველი სწრაფი, კატალიზდება მრავალი ორვალენტიანი მეტალის იონებით, ფერმენტის აქტივობა არ აღგდება. ფერმენტის აქტიური ფორმები კი წარმოიქმნება მეორე _ ნელ სტადიაზე

მანგანუმთან, მაგნიუმთან და კალციუმთან პრეინკუბაციის შემდეგ. ელიოტმა (Elliott 1953) გამოჰყო აზოტის ცვლაში მონაწილე ფერმენტები, რომლის მოქმედებისათვის აუცილებელი იყო მანგანუმი ან მაგნიუმი. ნაჩვენებია, რომ მანგანუმი მოქმედებს გლუტა-მინსინთეტაზის აქტივობაზე.

ამონიუმის ასიმილაციის მეორე უმთავრესი ფერმენტის გლუტამატდეჰიდროგენაზე არაორგანული იონების გავლენის შესწავლით ნაჩვენებია, რომ Cu^{2+}, Mn^{2+} და Mg^{2+} 0,03-10 mM კონცენტრაციაში არ მოქმედებენ ამერიკული აგავის ნად-გდჰ-ზე (Ramires et al., 1977) მაგრამ ძლიერ ააქტივებენ ანალოგიურ ფერმენტს ბარდის ღეროებიდან (Gerlind,Dennis,1977).

თუთიის გავლენა ცილების სინთეზზე შესაძლებელია განხორციელდეს გლუტამატდეჰიდროგენაზათი, რომელიც წარმოადგენს ცხოველურ ქსოვილებში თუთიის შემცველ ფერმენტს. გლუტამატდეჰიდროგენაზა _ რთული ფერმენტია მოქმედების ფართო სპექტრით. ნაჩვენებია, რომ Zn^{2+} წარმოადგენს ხარის ღვიძლის გდჰ-ს არა მარტო კოფაქტორსა და აქტივატორს, არამედ მონაწილეობს მის ალოსტერულ რეგულაციაში, რასაც საფუძვლად უდევს ფერმენტის მოლეკულის კონფორმაციული ცვლილებები (Школьник 1974).

აზოტის ცვლის ძირითადი ფერმენტი გლუტამატდეჰიდროგენაზაა, მას გააჩნია რთული მეოთხეული სტრუქტურა და შედგება ექვსი სუბერთეულისაგან. ფერმენტის მოლეკულაში Zn^{2+} არსებობა შესწავლილია მცენარეებშიც. ნაჩვენებია, რომ Zn^{2+} უკმარისობისას მცენარეებში გდჰ_ს აქტივობა მცირდება (Nicholas, Madey, 1960; Поликарпочина, 1968; Поликарпочина, Хавкин, 1972). პირდაპირი მტკიცებულება იმის შესახებ რომ მცენარეული გდჰ მეტალშემცველი ფერმენტია არ არსებობს. ნაჩვენებია თუთიის როგორც ასოცირებული მეტალის არსებობა სიმინდის ფესვებში (Поликарпочкина, 1975) და პომიდვრის ქლოროპლასტური გდჰ-ს შემადგენლობაში (Игошина, Косицин, 1975). Zn^{2+} ასრულებს მნიშვნელოვან როლს ბარდის ფესვების გდჰ-ს ნატიური კომფორმაციის შენარჩუნებაში (Гильмонов и др., 1981).

Ca-ის იონები მცენარეული გდჰ-ს ეფექტური რეაქტივატორია, მისი 4-10 mM კონცენტრაცია 50%-ით ზრდის რეაქციის ხარისხს (Scheid et al., 1980, Kindt et al., 1980), ხოლო Mg^{2+} ,Mn^{2+}, Zn^{2+} რეაქციის ხარისხი დამოკიდებულია გდჰ ბუნებაზე (Gerland et al., 1977,Takeo 1979., Negel et al., 1980) და მიიღწევა შედარებით დიდ არაფიზიოლოგიურ კონცენტრაციებზე (Kindt et al., 1980).

არსებული მონაცემები თუთიისშემცველი ფერმენტებზე შესაძლებელია დაგვეხმაროს გავარკვიოთ ამ ელემენტის ფიზიოლოგიური როლის ზოგიერთი უმნიშვნელოვანესი ასპექტი.

დღეისათვის არ არსებობს მტკიცებულება თუთიის უპირატეს როლზე მცენარეულ გდჰ-ში. ბულენი (Bulen, 1956) თვლის, რომ სიმინდის გდჰ არ შეიცავს თუთიას, არსებობს განსხვავებული მონაცემები (Yamasaki, Suzuki, 1969), რომ ბარდას გდჰ დაკავშირებულია თუთიასთან, რამდენადაც ის მგრძნობიარეა ამ მეტალის ზოგიერთ ხელატწარმომქმნელ ნივთიერებებთან, რაც დადასტურდა სხვა შრომებშიც _ ნად H- დამოკიდებული გდჰ-სათვის ბარდას ფესვებიდან და სოიას ლებნებიდან. Mმსგავსი შედეგებია მიღებული НАД-H დამოკიდებული გდჰ სიმინდის ფესვებიდანაც (Поликарпочина, Хавкин 1972). შეხედულება იმის შესახებ, რომ ფერმენტის დათრგუნვა ხელატწარმომქმნელი რეაგენტებით ჩაეთვალოს მასში თუთიის არსებობით არასწორია. თუთიის ფიზიოლოგიური როლი მჭიდრო კავშირშია მცენარეებში აზოტოვან ცვლასთან გლუტამატდეჰიდროგენაზას საშუალებით. მოგვიანებით ნანახია, რომ თუთიის ნაკლებობისას სიმინდის ინტაქტურ მცენარესა და ასევე იზოლირებულ ფესვებში დარღვეულია აზოტის ცვლა: შეზღუდულია ცილის სინთეზი და მცირდება გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობა. თუთიის უკმარისობა იწვევს აზოტის არა-ცილოვანი ხსნადი ნაერთების ამიდებისა და ამინომჟავების მნიშვნელოვან დაგროვებას. იმატებს ასევე თავისუფალი ამინომჟავების შემცველობა. აღსანიშნავია, რომ ამინური აზოტის შემცველობა იმატებს მცენარეებში თუთიის უკმარისობით გამოწვეული ტიპიური სიმპტომების ჩამოყალიბებამდე (Naik et al.,1961).

ამგვარად, მცენარის ბიოქიმიურ თავისებურების, ნივთიერებათა ცვლის პროცესების და გარეგანი ფაქტორების ცოდნა, რომლებიც ამა თუ იმ გზით გავლენას ახდენენ ნივთიერებათა ცვლასა და მცენარის ქიმიურ შედგენილობაზე, აუცილებელია მაღალი ხარისხის უხვი მოსავლის მისაღებად და ხარისხის გაუმჯობესების ეკოლოგიურად მისაღები გზაა.

1.2 ამონიუმის ასიმილაციის მეტაბოლური გზები უმაღლეს მცენარეებში

მცენარეთა მოსავლიანობა და კერძოდ მათში ცილის შემცველობა განსაზღვრულია აზოტის შეთვისების უნარით და ამონიუმის ასიმილაციით, რომელიც წარმოიქმნება როგორც აზოტფიქსაციის, ისე ეგზოგენური აზოტის სáვადასáვა ბმული ფორმების შეთვისების შედეგად (Miflin 2002). ამდენად საინტერესოა როგორია ის “კარები”, რომლითაც ამონიუმი - ერთადერთი ნაერთი რა ფორმითაც არაორგანული აზოტი ერთვება ამინომჟავებსა და ცილებში, შედის და მონაწილეობს მცენარის ნივთიერებათა ცვლაში, როგორია ბუნება იმ პირველადი ორგანული ნაერთებისა, რომლებიც წარმოადგენენ ამონიუმის ასიმილაციის პროდუქტებს.

კლასიკური გამოკვლევებით აქ პირველ პლანზე გამოდის გლუტამინის მჟავა და რეაქცია 2-ოქსოგლუტარის მჟავის აღდგენითი ამინირებისა გდჰ-ს მოქმედებით. ეს რეაქცია პირველად ნაჩვენები იქნა ეილერის მიერ 1938 წელს:

$$HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}COOH + NH_3 + 2H^+ \longrightarrow HOOC\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH + H_2O$$

1974 წლამდე ითვლებოდა, რომ ამონიუმის ასიმილაცია უმაღლეს მცენარეებში გდჰ-ს მიერ კატალიზებული 2-ოქსოგლუტარატის აღდგენითი ამინირებით ხდება (Sims et al., 68; Кретович, 1972; Шатилов, 1982).

გდჰ რეაქციას აკატალიზებს კოფერმენტის თანაობისას. დღეისათვის დადგენილია სამი დამოუკიდებელი გდჰ-ს არსებობა. Nნად-სპეციფიურის (ფკ 1.4.1.2), ნად(ფ)-სპეციფიურის (ფკ 1.4.1.3), Nნადფ-სპეციფიურის (ფკ 1.4.1.4). ამ ფერმენტის საერთაშორისო სახელწოდებაა L–გლუტამატ: ნად(ფ) ოქსიდორედუქტაზა.

გდჰ მცენარეულ სამყაროში ფართოდ გავრცელებული ფერმენტია. Mმის მიერ კატალიზებული 2-ოქსოგლუტარატის აღდგენითი ამინირების და L-გლუტამატის ჟანგვითი დეზამინირების შექცევადი რეაქციის წონასწორობა *in vitro* გადახრილია L-გლუტამინის მჟავის სინთეზის (აღდგენითი ამინირების) მხარეს (Sims et al., 1968; Mckenzie, Lees, 1981; Шатилов, 1982). ნაჩვენებია გდჰ *de novo* სინთეზის ინდუქცია ამონიუმის გავლენით (Кретович и др., 1969; Barash at al., 1973; Шатилов, 1982).

მოგვიანებით ეს ფერმენტი აღმოჩენილია უმაღლეს მცენარეებში. ნად და ნადფ სპეციფიური გდჰ აქტივობის შედარებისას აღმოჩნდა, რომ ნად სპეციფიური გდჰ უფრო აქტიურია ფესვებში, რაც მიუთითებს ამ ფერმენტის უმნიშვნელოვანეს როლზე მცენარის ფესვების მიერ ამონიუმის ასიმილაციის პროცესში. მის მიერ კატალიზებულ რეაქციას აქვს ზოგიერთი მახასიათებელი, რომელიც არაა ხელსაყრელი ცენტრალური ბიოქიმიური რეაქციებისათვის. კერძოდ, ის შექცევადია და აქვს დაბალი სწრაფვა ამონიუმის მიმართ (Memaster et al., 1981).

მეორე პროდუქტი ასიმილაციისა, ასევე საწყისი არის გლუტამინი. გლუტამინის წარმოქმნა ამონიუმიდან კატალიზდება ფერმენტით, რომლის მოქმედების შედეგია ამიაკის ჩართვა გლუტამინის მჟავის კარბოქსილის ჯგუფში გლუტამინის წარმოქმნით.

მოგვიანებით ნაჩვენები იქნა, რომ ფიქსირებული აზოტის, აგრეთვე ამონიუმის ან ნიტრატის სახით მიწოდებული ამონიუმის ასიმილაციაში მონაწილე ძირითად ფერმენტს წარმოადგენს გლუტამინსინთეტაზა (გს) და ამონიუმის გავლენით ადგილი აქვს გლუტამინსინთეტაზას ინდუქციასაც (Евстигнеева и др.,1977). ნაჩვენები იქნა აგრეთვე, რომ ამონიუმის ასიმილაციისას ქერის ფესვებში მკვეთრად იზრდება გლუტამინის რაოდენობა და მცირდება გლუტამინის და ასპარაგინის მჟავების რაოდენობა.

ნაჩვენებია, რომ მცენარის აზოტის მეტაბოლიზმი და გლუტამინსინთეტაზა წარმოადგენენ კომპლექსურ მატრიცას, რომელიც მცენარის განვითარების ციკლის პარალელურად განიცდის ცვლილებას. ნახშირბადისა და აზოტის საჭირო ბალანსის შენარჩუნებაში გლუტამატდეჰიდროგენაზასთან ერთად, რომელიც განაპირობებს ამინომჟავებში ნახშირბადის დაბრუნებას ნახშირბადის მეტაბოლიზმისა და კრებსის

ციკლის საშუალებით, მნიშვნელოვან როლს ასრულებს გლუტამინსინთეტაზა (Miflin et al., 2002)

დადასტურებულია, რომ ამონიუმის ასიმილაცია გლუტამინის მჟავისაგან გლუტამინის სინთეზის გზით ხდება. გდჰ-სთან ერთად ამიდური აზოტის ამინომჟავებსა და შემდეგ ცილებში ჩართვაში მნიშვნელოვან როლს ასრულებს გლუტამინსინთეტაზა, რომელიც აკატალიზებს ამონიუმის ასიმილაციას გლუტამინის სინთეზის პროცესში (Lea ,Miflin 2003). ამ ფერმენტის მიერ ამონიუმის ფიზიოლოგიური კონცენრაციების ასიმილაციას განაპირობებს გს მაღალი სწრაფვა ამონიუმის მიმართ (O'Neal, Joy, 1975; Шатилов, 1982; Пушкин, 1985). გდჰ-თან შედარებით გს კიდევ ერთი უპირატესობა იმაში მდგომარეობს, რომ გს შეუქცევად რეაქციას აკატალიზებს. როგორც ცნობილია, მეტაბოლური გზების გადაკვეთაზე მდებარე რეაქციების უმრავლესობა შეუქცევადია.

ამონიუმის გლუტამინის სინთეზის გზით ასიმილაციის სუსტი ადგილი იმაში მდგომარეობს, რომ გლუტამინის მჟავა სხვა ამინომჟავების ბიოსინთეზის რეაქციებში ამინო-ჯგუფების დონორია. იმ დროისათვის კი არ იყო ცნობილი ფერმენტი, რომელიც მოახდენდა გლუტამინის მჟავის სინთეზს გლუტამინისაგან.

მიუხედავად იმისა, რომ გლუტამატდეჰიდროგენაზული გზა ამიაკის ასიმილაციისა ფართოდ იყო მიღებული, ფერმენტ გლუტამატსინთაზას აღმოჩენამ ბაქტერია *Klebsiela aerogenes*-ში, ეჭვის ქვეშ დააყენა იმ დროისათვის გავრცელებული შეხედულება ამონიუმის გდჰ-ს საშუალებით ასიმილაციის შესახებ (Tampest et al., 1970). იკვლევდა რა ამინომჟავების შიდაუჯრედულ ცვლას ამონიუმის ასიმილაციისას ბაქტერია *Klebsiela aerogenes*-ში, ტემპესტმა ნახა, რომ ამონიუმის ასიმილაციის თანმიმდევრობაა:

ამონიუმი → გლუტამინი → გლუტამინის მჟავა

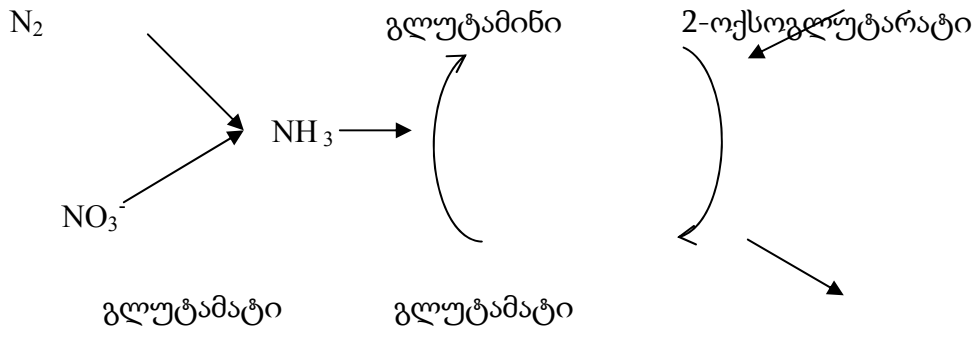
ეს თანმიმდევრობა მიუთითებდა, რომ პირველადი ასიმილაცია ხდება გლუტამინის ამიდურ პოზიციაში და ეს ამიდური აზოტი შემდგომ გამოიყენება გლუტამინის მჟავის სინთეზისათვის. თუმცა ამ დროისათვის არ იყო ცნობილი ფერმენტი, რომელიც მოახდენდა გლუტამინიდან გლუტამატის სინთეზს.

შემდგომში ტემპესტისა და თან. Mმიერ ბაქტერია *Klebsiela aerogenes* აღმოჩენილი იქნა ფერმენტი, რომელიც აკატალიზებდა გლუტამინის ამიდური ამინოჯგუფის აღდგენით გადატანას 2-ოქსოგლუტარის მჟავის 2-ოქსო მდგომარეობაში აღდგენილი პირიდინნუკლეოტიდის ნად-H-ის თანაობისას: რეაქციის შედეგად მიიღება ორი მოლეკულა გლუტამინის მჟავა.

ეს ფერმენტი კლასიფიცირებულ იქნა და ეწოდება გლუტამინ: 2-ოქსოგლუტარატ ამინოტრანსფერაზა (ნადფH მჟანგავი), ფკ 2.6.1.53. ფერმენტის ტრივიალური სახელწოდებაა გლუტამატსინთაზა. ლიტერატურაში ფართოდ გამოიყენება გლუტამატსინთაზას შემოკლებული აღნიშვნა **გოგატ.**

ამჟამად ახალი საერთაშორისო რეკომენდაციით გლუტამატზინთაზა გადაყვანილია ოქსიდორედუქტაზების კლასში და აქვს სისტემატიკური სახელწოდება: გლუტამატ. Nადფ-ოქსიდორედუქტაზა, მადეზამინირებელი და ამიდური ჯგუფის წარმომქმნელი (ფკ 1.4.1.13).

ამ ციკლში გლუტამატი არის აქცეპტორიც და პროდუქტიც:



თავდაპირველად აღწერის შემდეგ, გას ნანახი იქნა ბაქტერიების დიდ ჯგუფში. 1972 წელს იგი გამოყოფილ და გასუფთავებულ იქნა *E. coli* (Miflin 1976). ეს არის ფლავოპრიტეიდი, რომელიც შეიცავს არაჰემინურ რკინას და ლაბილურ გოგირდს. ის მაღალსპეციფიურია გლუტამინისა და 2-ოქსოგლუტარის მიმართ.

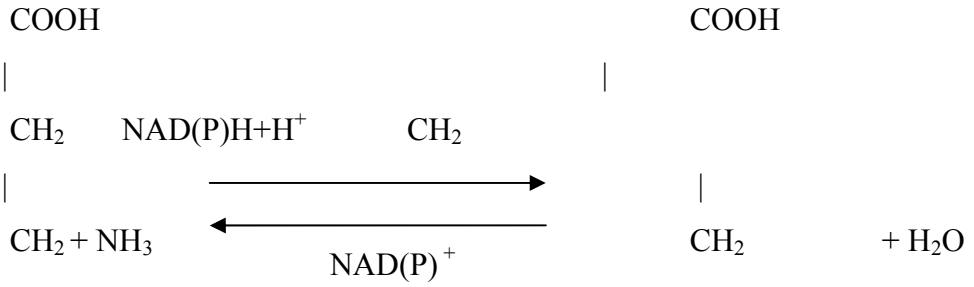
თავდაპირველი ცდები აღმოეჩინათ პირიდინნუკლეოტიდ-დამოკიდებული **გოგატ-**ი უმაღლესი მცენარეებში წარუმატებლად დამთავრდა. მაგრამ 1974 წელს დოუგალის მიერ ასეთი ფერმენტი ნანახი იქნა სტაფილოს ქსოვილოვან კულტურაში (Dougall, 1974). ხოლოლი და მიფლინმა აღმოაჩინეს ფერმენტი, რომელიც აკატალიზებდა ანალოგიურ რეაქციას აღდგენილი ფერედოქსინის თანაობისას. ფერმენტი არააქტიური იყო პირიდინნუკლეოტიდთან (Lea, Miflin, 1974).

პირიდინნუკლეოტიდ-დამოკიდებული **გოგატ-**ი შემდგომში ნანახი იქნა ცოცხალი სამყაროს მრავალ წარმომადგენელში.

გლუტამატსინთაზას მნიშვნელობა იმაში მდგომარეობს, რომ ის ასრულებს ციკლს, რომელშიც რეალიზდება გლუტამინსინთეტაზას, როგორც ასიმილატორული ფერმენტის უპირატესობანი (მაღალი სწრაფვა ამონიუმის მიმართ და შეუქცევადი რეაქციის კატალიზი). ციკლში რომელსაც როდსმა მოგვიანებით გლუტამატსინთაზური ციკლი უწოდა (Rhodes at al., 1980), გლუტამინის მჟავა არის როგორც აქცეპტორი, ისე პროდუქტი.

ამონიუმის ასიმილაციის გზების შესახებ გს და გოგატ, ანუ გლუტამატსინთაზური ციკლის საშუალებით ალტერნატიული ჰიპოტეზა წარმოშვა ფდ_**გოგატ**ის აღმოჩენამ (Miflin, Lea, 1976, 1980, 1982). მიღებულია, რომ ბაქტერიები და მწვანე წყალმცენარეები შეიცავენ გლუტამინსინთეტაზას და გლუტამატსინთაზას. ისინი ასევე შეიცავენ გლუტამატდეჰიდროგენაზასაც. ეს მათ საშუალებას აძლევს ჰქონდეთ ორი ალტერნეტიული ასიმილატორული გზა:

გლუტამატდე ჰიდროგენაზული გზა



|	|
C=O	CH-NH_2
|	|
COOH	COOH
2-ოქსოგლუტარატი	გლუტამატი

გლუტამინსინთეტაზა-გლუტამატსინთაზური გზა:

COOH		COOH
|		|
CH_2		CH_2
|		|
$CH_2 + NH_3 + ATP$	$\longrightarrow$	$CH_2 + ADP + Pi$
|		|
CH-NH_2		CH-NH_2
|		|
COOH		COOH
გლუტამატი		გლუტამინი

CO NH_2 COOH		COOH	COOH	
|	|	|	|	
CH_2 CH_2	CH_2	CH_2		
|	|	|	|	
$CH_2 + NH_3 + CH_2$	$\xrightarrow{2H}$	CH_2	$+ CH_2$	

```
|||          |
CH-NH2  C=O                    CH-NH2 CH-NH2
|          |                   |              |
COOH            COOH                COOH         COOH
```

გლუტამინი 2-ოქსოგლუტარატი 2 მოლეკულა გლუტამატი

მოქმედებენ რა თანმიმდევრულად, გლუტამინსინთეტაზა და გლუტამატსინთაზა უზრუნველყოფენ გლუტამინისა და გლუტამინის მჟავას წარმოქმნას.

ზოგიერთ ბაქტერიაში ამ ფერმენტის აქტივობის დონის ვარირების მიხედვით შესაძლებელია ნაჩვენები იქნას, რომ გს/გას გზა მოქმედებს სხვა პირობებში, ამონიუმის ლიმიტირებული რაოდენობის დროს, ხოლო გდჰ-ზური გზა მოქმედებს ამონიუმის სიჭარბის დროს (Givan 1979). თუმცა პალიხის ლაბორატორიაში გამოქვეყნდა ბარდას ჰომოგენურ გდჰ-ზე ჩატარებული Km კინეტიკური ანალიზის შედეგები, რომელიც მიუთითებს, რომ გლუტამატდეჰიდროგენაზა აღდგენითი ამინირების რეაქციებში ძლიერ კარგადაა შეგუებული ამონიუმის კონცენტრაციის ფართო საზღვრებისადმი. ავტორი ასევე იუწყება, მან ბარდის ფოთლებიდან აღდგენითი ამინირების რეაქციისათვის მიიღო გდჰ ძალიან მაღალი ხვედრითი აქტივობა. გდჰ-ს ფართოდ გავრცელება მცენარეულ სამყაროში ეჭვს არ იწვეწვს მის მონაწილეობაზე აზოტის ასიმილაციის პირველ ეტაპზე (Nauen et al., 1980). გლუტამინსინთეტაზა და გლუტამატდეჰიდროგენაზა როგორც კონკურენტული რეგულაციის საგანი, რეგულაციას განიცდიან უფრო მეტად გლუტამინით ვიდრე ამონიუმით. მას აქვს უარყოფითი კონტროლი (რეპრესია) გს-ზე და დადებითი (ინდუქცია) გდჰ-ზე. ამ ორი ფერმენტის შეფარდების ცვლილებას გლუტამინის უჯრედშიდა პულის საპასუხოდ შეუძლია ამონიუმის ამინომჟავებში ჩართვის მიმართულების რეგულაცია ასიმილაციის ორი ალტერნატიული გზის საშუალებით (Palich et al., 1971).

ამონიუმის მიმართ დაბალი სწრაფვის გამო გლუტამატდეჰიდროგენაზა აზოტის ასიმილაციის პროცესში მხოლოდ იმ შემთხვევაში ერთვება, როდესაც უჯრედში ამონიუმის კონცენტრაცია საგრძნობლად იმატებს. გლუტამატდეჰიდროგენაზას მიერ α-

კეტოგლუტარატის აღდგენითი ამინირება წარმოადგენს იმ ძირითად გზას, რომელიც არაორგანული აზოტის ამონიუმის ფორმას გარდაქმნის გლუტამატის α-ამინურ ფორმად და ასე რთავს მას აზოტოვან ცვლაში, ანუ ასიმილაციის შედეგად არაორგანული აზოტი გარდაიქმნება ორგანულად, ერთვება ამინომჟავებში და განსაზღვრავს როგორც ცილის დაგროვებას, ისე მცენარის შემდგომ მეტაბოლიზმს.

მიუხედავად ამისა, მაინც გაურკვეველია რომელი გზა არის ძირითადი და წარმმართველი. უმაღლეს მცენარეებში ბევრი რამ ჯერ კიდევ არ არის ნათელი. კერძოდ, აზოტის მეტაბოლიზმის ფერმენტების აქტივობის ცვლილებები მიუთითებენ, რომ ადგილი აქვს გადასვლას გს/გას გზიდან გდჰ გზაზე.

1.3 **გლუტამინსინთეტაზა. მოლეკულური ფორმები, თვისებები და რეგულაცია უმაღლეს მცენარეებში**

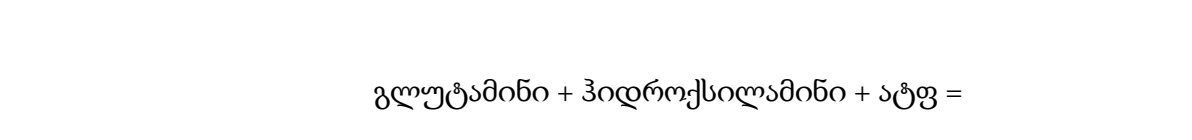
გლუტამინსინთეტაზა უმნიშვნელოვანესი ფერმენტია, რომელიც ცენტრალურ როლს ასრულებს აზოტოვან ნივთიერებათა ცვლაში. მას მიეკუთვნება ერთერთი ძირითადი როლი მიკროორგანიზმებსა და უმაღლეს მცენარეებში ამონიუმის პირველად ასიმილაციაში. გს სისტემატიკური სახელწოდებაა: L-გლუტამატ: ამიაკ ლიგაზა(ადფ წარმომქმნელი), (ფკ. 6.3.1.2).

გლუტამინსინთეტაზას მოქმედების შედეგად გლუტამინის მჟავისა და ამო-ნიუმისაგან მიიღება გლუტამინი. რეაქციაში მონაწილეობს ატფ და ორვალენტიანი მეტალის კათიონები, რომელთაგანაც ფერმენტი უპირატესობას Mg^{2+}-ს ანიჭებს.

$$\text{L-გლუტამატი} + \text{ატფ} + NH_3 \rightarrow \text{L-გლუტამინი} + \text{ადფ} + H_3PO_4$$

პირველად ეს ფერმენტი აღმოჩენილი იქნა ცხოველურ ორგანიზმებში. რამდენადაც გლუტამინი ასრულებს მნიშვნელოვან როლს მცენარის აზოტის მეტაბოლიზმში, მაშინვე დაიწყო ამ ფერმენტის ძებნა მცენარეებში. დენეშმა (Denes, 1953; Denes, Gazda, 1953) მიიღო

ხანჭკოლიდან გასუფთავებული ფერმენტი, ხოლო უებსტერმა (Webster,1953) აღმოაჩინა ის, სხვადასხვა ოჯახის მცენარეებიდან მიღებულ აცეტონურ პრეპარატში. გს უნარი შესწევს ტრანსფერაზული რეაქციის კატალიზის, რომლის სუბსტრატები გლუტამინი და ჰიდროქსილამინია. თუ მხედველობაში მივიღებთ იმას რომ, რომ მცენარეულ უჯრედში ჰიდროქსილამინი მიზერული რაოდენობით გვხვდება, ბოლო ორ რეაქციას არა აქვს პრაქტიკული მნიშვნელობა მცენარის მეტაბოლიზმში. ნაჩვენები იქნა აგრეთვე, რომ ეს ფერმენტი აკატალიზებს აგრეთვე γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავის სინთეზს გლუტამინის მჟავისა და ჰიდროქსილამინისაგან (ადფ და ფოსფატის კატალიზური რაოდენობისას) შემდეგი ტოლობის თანახმად:



გლუტამინი + ჰიდროქსილამინი + ატფ =

γ-გლუტამილჰიდროქსამატი + ადფ + H_3PO_4

ნაჩვენებია, რომ ქერისა და ბარდის ფოთლებში ფუნქციონირებს ორი გლუტამინსინთეტაზა – ერთი ქლოროპლასტებში, მისი კოდირება ხდება ქლო-როპლასტებში. Qქლორამფენიკოლი (ცილის სინთეზის სპეციფიკური ინჰიბიტორი ქლოროპლასტებში) სრულიად აბრკოლებს მის ინდუქციას. მეორე ფერმენტის სინთეზი ხორციელდება ციტოზოლში და ინჰიბირდება ცილკოჰექსამიდით (Mann et al.,1979). ნაჩვენებია, რომ მიტოქონდრიებში საკმარისი რაოდენობითაა წარმოდგენილი გლუტამინსინთეტაზა, რომელიც ამონიუმის რეასიმილაციაში მანაწილეობს (Joy K. W. 1988).

გამოყოფილი და გაწმენდილია გს გოგრის ფოთლებიდან. ნაჩვენებია, რომ აქ არის ორი გს: ციტოპლაზმური (70-50%) და ქლოროპლასტური(30-50%). შესწავლილია მათი თვისებები.

ნაჩვენები იქნა, რომ ფერმენტის ორ ფორმას ახასიათებს სხვადასხვა რეგულატორული თვისებები (Садунишвили и др.1985) გლუტამინსინთეტაზას

რეგულაცია უმაღლეს მცენარეებში ფერმენტის სინთეზისა და აქტივობის დონეზეა შესწავლილი.

კრეტოვიჩის ლაბორატორიაში ნაჩვენები იქნა, რომ ბარდის მთლიანი მცენარის ფესვებში ამონიუმის ფოსფატის ინფილტრაციისას აღინიშნება გლუტამინსინთეტაზას აქტივობის მნიშვნელოვანი მატება. აქტივობის მცირედი მატება შეინიშნებოდა გლუტამინის ინფილტრაციისას. ყველაზე ძლიერ აქტივობის მატებას ადგილი ჰქონდა ორივე სუბსტრატის ერთდროული ინფილტრაციისას.

ეს მონაცემები მოუთითებენ გლუტამინსინთეტაზას წარმოქმნის სუბსტრატულ ინდუქციაზე. ამონიუმისაგან განსხვავებით, ნიტრატის ინფილტრაცია არ იწვევდა ფერმენტის ინდუქციას.

ჩატარებული იქნა სპეციალური ცდები გოგრაზე გს-ის ინდუქციის შესახებ (Джохаридзе 1980) ამონიუმის და ცილის სინთეზის სპეციალური ინჰიბიტორების ქლორამფენიკოლის (ქლოროპლასტებში) და ცილკოჰექსამიდის (ციტოზოლში) ინფილტრაციამ გოგრის ფოთლებში აჩვენა, რომ ამონიუმი იწვევს გლუტამინსინთეტაზას აქტივობის მომატებას როგორც ქლოროპლასტებში, ისე გოგრის ფოთლის ციტოზოლში. ინჰიბიტორებით მისი დათრგუნვა მიუთითებს ფერმენტის *de novo* სინთეზზე.

მცენარეული გს-ები აკატალიზებენ როგორც L– ისე D– გლუტამინის მჟავის ამინირების რეაქციას, ამასთან ფერმენტი მკაცრად სპეციფიკურია ატფ-ის მიმართ (Пушкин и др., 1973). მეტალებიდან, გს მაქსიმალურ აქტივობას ამჟღავნებს მაგნიუმთან. მანგანუმთან ფერმენტის აქტივობა გაცილებით ნაკლებია (Евстигнеева, 1988).

თავდაპირველად მცენარის ფოთლებში ნანახი იქნა ქლოროპლასტული გს გამოყოფილი და გაწმენდილი იქნა ბარდადან (O'Neal, Joy, 1973). მოგვიანებით მცენარის ფოთლებში ნანახი იქნა მეორე ციტოპლაზმური ფერმენტიც. გს-ის ორი ორი იზოფორმა _ ციტოპლაზმური და ქლოროპლასტური გს ნანახია უმაღლეს მცენარეთა მრავალ წარმომადგენელში (Евстигнеева и др., 1977; Mann et al., 1979; Wallsgrove et al., 1980; McNelly et al., 1983). თანაფარდობა ამ ორ ფორმას შორის მცენარეთა სხვადასხვა სახეობაში სხვადასხვაა (McNelly et al., 1983) და დამოკიდებულია ქსოვილის განვითარების ფაზაზე,

ანუ ასაკზე (Tobin et al., 1985; 1988) და სინათლეზე (McNelly , Hirel, 1983; Edwards, Coruzzi, 1989). მაკნელი და თან. შეისწავლეს რა გს მრავლობითი მოლეკულური ფორმები სხვადასხვა მცენარეში, დაყვეს ისინი ოთხ ძირითად ჯგუფად:

1. უმაღლეს მცენარეთა ქლოროფილის არ-შემცველი პარაზიტები, რომლებიც იკვებებიან პატრონი მცენარიდან, შეიცავენ გს ერთ ციტოპლაზმურ ფორმას.

2. მცენარეთა ფართო ჯგუფი, მათ შორის ისპანახი, თამბაქო და ხანჭკოლა, შეიცავენ გს-ის მხოლოდ ერთ, ქლოროპლასტურ ფორმას.

3. C3 ტიპის მცენარეები და ჩვეულებრივი პარკოსნები, რომლებიც შეიცავენ მინორულ ციტოპლაზმურ (5-30%) და ძირითად რაოდენობა ქლოროპლასტურ (70-95%) ფორმას.

4. C4 მცენარეები და ტროპიკული პარკოსნები, რომლებიც შეიცავენ 80%-მდე ციტოპლაზმურ გას-ს.

ფოთლებში გს ორი ფორმის არსებობა ბადებს შეკვითხვას: ხომ არ არის ეს ფორმები ერთიდაიგივე ცილის ქიმიური მოდიფიკაციის შედეგი. ასეთი მოსაზრება გამოითქვა ქერის ფოთლების ცოტოპლაზმური და ქლოროპლასტური გს-ის შესახებ (Mann et al., 1979). რადგან ამ ორ ცილას გააჩნია მსგავსი სედიმენტაციის კონსტანტები, თუმცა განსხვავდებოდნენ რიგი პარამეტრების მიხედვით: pH-ოპტიმუმი, თერმომედეგობა და სხვა. Gგოგრის ფოთლების გს-ების შესწავლით, რომლებიც გაწმენდილ იქნა ჰომოგენურ მდგომარეობაში დადგენილ იქნა, რომ ციტოპლაზმური და ქლოროპლასტური ფერმენტები სხვადასხვა ცილებია (Джохаридзе и др., 1979). გს-ის ეს ორი ფორმა განსხვავდებოდა ერთმანეთისაგან ამინომჟავური შედგენილობის, ხვედრითი აქტივობის და pH-ოპტიმუმის მიხედვით.

არამაფოტოსინთეზირებელ ქსოვილებში (ფესვები და ქსოვილთა კულტურები) გს-ის უდიდესი ნაწილი ლოკალიზებულია ციტოპლაზმაში (Oaks, Hirel.,1985), მცირე რაოდენობით ფერმენტი ნანახია პლასტიდებშიც (Vezina et al.,1987).

სწავლობდნენ რა თესლის განვითარების ფაზებში გს აქტივობის ცვლილებას, ნახეს, რომ გს აქტივობა ლებნებში თავდაპირველად იყო დაბალი, მაგრამ დამწიფებამდე ბოლო

რვა დღის განმავლობაში ფერმენტის აქტივობა სწრაფად იზრედებოდა (Sodek et al., 1980). ამჟამად დადგენილია, რომ ჯერ კიდევ მწვანე თესლში გვხვდება გს-ის ორი ფორმა – ციტოპლაზმური და ქლოროპლასტური (Pushkin et al., 1985).

უმაღლეს მცენარეთა გს ოქტამერია, რომლის მოლეკულური მასა 350_400 კილოდალტონის ტოლია (Stewart et al., 1980). მოლეკულური მასისა და მეოთხეული სტრუქტურის მიხედვით ის ძალიან ჰგავს ძუძუმწოვრების გს-ს, და მკვეთრად განსხვავდება ბაქტერიული ფერმენტისაგან, რომელიც 12 სუბერთეულისაგან შედგება. ნაჩვენები იქნა, რომ *Salmonela typhimurium*-ის გს-ის აქტიური ცენტრი ორ სუბერთეულს შორისაა მოთავსებული(Stewart et al., 1980). ეიზენბერგის და თან. მიერ მოწოდებულია ანალოგიური მოდელი ეუკარიოტული ოქტამერული ფერმენტებისათვის.

უმაღლეს მცენარეთა გს–ის მოქმედების pH-ოპტიმუმი კოფაქტორზეა დამოკიდებული და მაგნიუმის შემთხვევაში იცვლება 7.0 დან 7.4-მდე. მანგანუმ დამოკიდებულ რეაქციაში ყვავილოვან მცენარეთა pH- ოპტიმუმი დაბალია 5.2-დან 5.5-მდე (Евстигнеева, 1988).

სხვადასხა მცენარიდან გამოყოფილი გს-ის კინეტიკური თვისებების შესწავლისას ნანახია, რომ ყველაზე მაღალი ხვედრითი აქტივობებით გამოირჩევიან პარკოსანი მცენარეების განსაკუთრებით ბარდისა და ხანჭკოლას გს-ები. გს რომელიც აზოტის მეტაბოლიზმის უმნიშვნელოვანესი ფერმენტია, განიცდის რეგულაციას როგორც სინთეზის, ასევე აქტივობის დონეებზე.

Arabidopsis ქლოროპლასტური გს-ის ძლიერ ინდუქციას განიცდის სინათლეზე, ნაწილობრივ ფიტოქრომით და ნაწილობრივ სინათლით გამოწვეული საქაროზას ცვლილებით (Oliveira, Coruzzi 1999).

ყვავილოვან მცენარეთა გს-ის სინთეზის რეგულაციის ყველაზე მნიშვნელოვანი ფაქტორი უჯრედში ამონიუმის იონის კონცენტრაციაა. ამასთან ამონიუმის კონცენტრაცია, რომელიც ოპტიმალურია ფერმენტის ინდუქციისათვის უმაღლეს მცენარეებში, ქლორელასა და პროკარიოტებში, მათ შორის სიმბიოზურ აზოტფიქსატორ რიზობიუმში, მატად განსხვავებულია.

ნაჩვენებია გს სინთეზის გაძლიერება ამონიუმის გავლენით ვაკუუმინფილტრაციის მეთოდის გამოყენებით ბარდას ფესვებში (Кретович и др., 1969) , ბარდასა და გოგრის ფოთლებში (Евстигнеева, 1988).

1.4 გლუტამატდეჰიდროგენაზა. გავრცელება, კოფერმენტული სპეციფიურობა, თვისებები და რეგულაცია უმაღლეს მცენარეებში

ფერმენტის ნომენკლატურაში ჩართულია სამი ცნობილი გლუტამატდეჰიდროგენაზა, შემდეგი სისტემატური და რეკომენდირებული სახელწოდებით:

L–გლუტამატ: ნად+ ოქსიდორედუქტაზა (მადეზამინირებელი), 1.4.1.2 (ნად-გდჰ)

L–გლუტამატ: ნად(ფ)+ ოქსიდორედუქტაზა. (მადეზამინირებელი), 1.4.1.3 (ნად(ფ)-გდჰ);

L–გლუტამატ: ნადფ+ ოქსიდორედუქტაზა (მადეზამინირაბელი), 1.4.1.4 (ნადფ-გდჰ).

$$\text{L–გლუტამატი} + H_2O + \text{ნად(ფ)}^+ \rightarrow \text{2-ოქსოგლუტარატი} + NH_3 + \text{ნად(ფ) H}$$

გდჰ-ების მიერ კატალიზებული რაქციის წონასწორობა *in vitro* ძლიერაა გადახრილი L–გლუტამატის სინთეზის მიმართულებით.

გდჰ აღმოჩენას და შესწავლას დიდი ხნის ისტორია აქვს. ჯერ კიდევ ჩვენი საუკუნის დასაწყისში იყო ცნობილი α-ამინო და α-კეტომჟავების ურთიერთგარდაქმნის შესახებ. 1936 წელს ნაჩვენები იქნა, რომ ბაყაყის ტვინის ჰომოგენატი ახდენდა გლუტამატის დაჟანგვას 2-ოქსოგლუტარატის წარმოქმნით. შემდგომ დადგენილ იქნა რომ რეაქციისათვის აუცილებელია კოფერმენტი კერძოდ, მცენარეული ექსტრაქტები საჭიროებდნენ ნად-ს, ბაქტერიებისა და საფუვრების კი ნადფ-ს მოგვიანებით მიღებული იქნა ხარის ღვიძლის ფერმენტი კრისტალური სახით.

მცანარეული გდჰ-ები შედარებით ნაკლებად შესწავლილია ცხოველურ და მიკრობულ ფერმენტებთან შედარებით. ეს განსაკუთრებით ეხება მრავალწლიანი

მცენარეების გდჰ-ებს, რაც განპირობებული უნდა იყოს მათი გამოყოფისა და გაწმენდის სირთულით აღნიშნული ობიექტებიდან.

გდჰ ცოცხალ სამყაროში საკმაოდ გავრცელებული ფერმენტია. სამი ცნობილი გდჰ-დან ცხოველებში გვხვდება ნად(ფ)-გდჰ. ბაქტერიები როგორც წესი შეიცავენ ერთ ნად- ან ნადფ-სპეციფიკურ ფერმენტს, სოკოებსა და საფუვრებში კი გდჰ-ს ორივე ფორმა გვხვდება (LeJohn, 1971).

თავდაპირველად თვლიდნენ, რომ უმაღლეს მცენარეებში გდჰ ფუნქციონირებს მხოლოდ ნად-თან (Bulen, 1956). ასეთივე აზრისაა მკვლევართა დიდი ნაწილი (Palich, Joy 1971; Barash et al 1976)

აღსანიშნავია, რომ ხშირად ნად(ფ) გდჰ-ს ნადფ-თან დაბალი (10%-ზე ნაკლები) აქტივობის გამო აღნიშნავდნენ როგორც ნად-სპეციფიკურ ფერმენტს. კოფერმენტისადმი არასპეციფიკური ნად(ფ)-გდჰ არსებობა ნაჩვენებია სხვადასხვა მცენარეში, ამასთან აღნიშნულია მათი უფრო მაღალი აქტივობა ნადH-თან და ნად$^{+}$-თან, ვიდრე ნადფH-თან და ნადფ$^{+}$-თან (Lee, Dougall, 1973; Barash et al., 1976; Hartmann, Ehmke, 1980; Takanashi, Furuhashi, 1980). უმაღლეს მცენარეებში გვხვდება ნადფ-სპეციფიკური ფერმენტიც (Leech, Kirk, 1968). სოიას გაღივებად მარცვლებში ნანახია სამი სახვადასხვა გდჰ (Mckenzie, Lees, 1981). მათგან თესლის ფერმენტი ერთნაირად ეფექტურია როგორც ნადH-თან ისე ნადფH-თან ამინირების რეაქციებში და ნად$^{+}$ და ნადფ$^{+}$-თან დეზამინირების რეაქციაში. ქლოროპლასტური ფერმენტი ამინირების რეაქციაში ამჯობინებს ნადფH-ს, ხოლო დეზამინირების რეაქციაში ნად$^{+}$-ს. მიტოქონდრიული გდჰ კი მკაცრად ნად-სპეციფიურია. ზოგიერთი ავტორი თვლის, რომ ნად-გდჰ ასრულებს კატაბოლურ, ნადფ-გდჰ კი ანაბოლურ ფუნქციას (Leech, Kirk, 1968).

უმაღლეს მცენარეთა უმრავლესობაში გდჰ მრავლობითი მოლეკულური ფორმებითაა წარმოდგენილი, რომელთა რაოდენობა სხვადასხვა ორგანოში იცვლება განვითარების ფაზების შესაბამისად. მაგალითად, იონჯას (Hartmann 1973) და ხანჭკოლას (Ratajczak et al., 1977) თესლების ლებნებში პააგ-ში ელექტროფორეზით მჟღავნდება გდჰ-ს შვიდი, ფესვში კი ოთხი მოლეკულური ფორმა. გდჰ-ს მოლეკულური ფორმების ორგანო-

სპეციფიკური ანაკრებების არსებობა დამახასიათებელია მრავალი მცენარისათვის- აბუსალათინი (Lea, Thurmann, 1972), ცერცვი (Yue, 1969), მაშა-ლობიო (Yue, 1969; Lea, Thurmann, 1972), გოგრა (Chou, Spilttstoesser, 1972). არსებობს მონაცემები იმის შესახებ, რომ სხვადასხვა მცენარის გდჰ-ს მოლეკულური ფორმები ხასიათდებიან ერთნაირი მოლეკულური მასის მქონე პროტომერების შემცველობით და გააჩნიათ ერთნაირი N- და C-ბოლო ამინომჟავები.მსგავსია მათი კინეტიკური თვისებებიც (Nagel, Hartmann, 1973; Scheid et al., 1980; Kindt et al., 1980). გდჰ-ს ეს მრავლობითი ფორმები, როგორც ჩანს კონფერმერებს წარმოადგენენ, განსხვავებული მუხტით. ორგანო-სპეციფიკური მოლეკულური ფორმების წარმოქმნის მექანიზმი და მისი ფიზიოლოგიური როლი უცნობია.

გდჰ იზოფერმენტების რაოდენობა იცვლება მცენარის სახეობის მიხედვით და დამოკიდებულია როგორც კვების, ისე გარემო პირობებისაგან. გდჰ-ს შვიდი იზოფერმენტია ნანახი ბარდაში (Thurmann et al., 1965; ; Scheid et al., 1980) ლობიოში (Yue, 1969), ცერცვში (Fawole et al., 1977) და *Ricinus* (Lee, Dougall, 1973). ამასთან იზოფერმენტების რაოდენობა იზრდება ამონიუმის (Kanamori et al., 1972; Barash et al., 1975; Lauriere, Daussant, 1983) ან ამინომჟავების (Ratajcsak et al., 1977) გავლენით და მცირდება საქაროზის გავლენით. სხვა მონაცემებით გდჰ-ს 14 იზოფერმენტია ნანახი ბარდაში (Hartmann, 1973), იონჯაში (Hartmann et al., 1980) ონკანის წყალზე გაზრდილ ბარდას ახალგაზრდა ყლორტებში გდჰ იზოფერმენტების რიცხვი 17-მდე იზრდება (Nauen, Hartmann, 1980).

მრავალი მონაცემის თანახმად გდჰ ყველაზე აქტიურია მცენარის ფესვებში, ნაკლებად აქტიური კი ფოთლებსა და ღეროებში (Van Die, 1962, Ubkmvfyjd b lh.> 1981; Gjkbrfhgjxrbyf> 1967; {fdrby b lh.>1977). ხორბლის მაგალითზე ნაჩვენები იყო, რომ ფესვების მოცილება მცენარისაგან იწვევს ფოთლებში გდჰ-ს აქტივობის ძლიერ დაქვეითებას(Kisban et al., 1964). ბარდას ფესვების გდჰ-ს დღე-ღამური დინამიკის შესწავლით ნაჩვენებია, რომ არსებობს ფერმენტის აქტივობის დღისა და ღამის პიკები (Duke et al.,1975). შესწავლილია გდჰ აქტივობის ცვლილება აღმონაცენის განვითარების პარალელურად (Srivastava et al.,

1975; Murrey, Kennedy, 1980; Бfcrfrjdf b lh.>1981). ნაჩვენებია, რომ ხორბლის პირველი ფოთლის ჩამოყალიბების შემდეგ, გდჰ აქტივობა იზრდება (Laurere et al., 1981). ამგვარად გდჰ უფრო აქტიურია მცენარის ფესვებში, რაც უნდა მიუთითებდეს მის პირველხარისხოვან როლზე მთელი ორგანიზმის აზოტის ცვლის პროცესში. ფერმენტის აქტივობის ზრდა ონტოგენეზში კი მცენარის ზრდის პარალელურად ცვლის პროცესების გააქტიურებით აიხსნება.

ლიტერატურაში განსხვავებული მონაცემები არსებობს გდჰ-ის სუბუჯრედული ლოკალიზაციის შესახებ. დიფერენციალური და გრადიენტული ცენტრიფუგირების მეთოდის გამოყენებით ნაჩვენებია გდჰ-ს ლოკალიზაცია მიტოქონდრიებში (Pahlich, Joy, 1971; Lea, Thurman, 1972; Kindt et al., 1980; Shied et al., 1980; Suzuki A, Knaff DB 2005). რადგან გდჰ ადვილად ხსნადია, ფიქრობენ, რომ ის მიტოქონდრიის მატრიქსშია ლოკალიზებული (Nauen, Hartmann, 1980), სხვა მონაცემებით ის მემბრანებთანაა ასოცირებული (Yamaya et al., 1984). მრავალი მცენრისათვის ნაჩვენებია მიტოქონდრიებისაგან განსხვავებული გდჰ-ს ლოკალიზაცია ქლოროპლასტებში (Leech, Kirk, 1968;Lea, Thurman, 1972; Miflin, 1974; Mckenzie, Lees 1981). ავტორის მონაცემებით ეს გდჰ მჭიდროდაა დაკავშირებული ქლოროპლასტის ლამელასთან და არ თავისუფლდება ოსმოსური შოკით, მაგრამ გამოიყოფა დეტერგენტის მოქმედების შედეგად (Leech, Kirk, 1968). არსებობს მონაცემები იმის შესახებ, რომ გდჰ ლოკალიზებულია ფესვის პლასტიდებში (Miflin, 1974). ზოგიერთი მკვლევარი მიუთითებს გდჰ ლოკალიზაციაზე მიტოქონდრიების პარალელურად ციტოზოლში (Kanamori et al., 1972; Ubkmvfyjd b lh.> 1981).

მცენარეული გდჰ-ების მოლეკულური მასები 208-270 კილოდალტონი ფარგლებში მერყეობს (Miflin, Lea,1982). ფერმენტი შედგება იდენტური სუბერთეულებისაგან, მოლეკულური მასით 46-58,5 კილოდალტონი ლიტერატურაში განსხვავებული მონაცემები არსებობს ფერმენტის მეოთხეული სტრუქტურის შესახებ. მაგალითად, ბარდას თესლების (Kindt et al., 1980), ხანჭკოლის კოჟრების (Stone et al., 1979) და სელის ლებნების (Sadler, Shaw, 1979) ნად-სპეციფიკური გდჰ-ები ჰექსამერია. მდოგვის ნად-გდჰ მასით 270 კილოდალტონი შედგება ოთხი სუბერთეულისაგან 19, 21, 23 და 25

კილოდალტონი არსებობს სხვა მონაცემებიც გდჰ-ს ტეტრამერული და ჰექსამერული სტრუქტურის შესახებ (Stewart et al., 1980). რაც შეეხება ნად(ფ)- გდჰ-ს, მისი მეოთხეული სტრუქტურა არაა შესწავლილი. განსაზღვრულია მხოლოდ ზოგიერთი მათგანის მოლეკულური მასა.

ყველა შესწავლილი გდჰ აკატალიზებს 2-ოქსოგლუტარატის აღდგენით ამინირებას pH–ის გაცილებით დაბალ მნიშვნელობაზე pH 7,5-8,5, ვიდრე ჟანგვით დეზამინირებას pH 8,5-10,0 (Pahlich, Joy, 1971; Ubkmvfyjd b lh.> 1981; Nrtvfkflpt> 1984).

გდჰ განიცდის რეგულაციას აქტივობისა და სინთეზის დონეებზე. გდჰ აქტივობის რეგულირება თვით ფერმენტის სუბსტრატებით ხდება, რაც ხშირად კინეტიკური მახასიათებლების ცვლილებაში გამოიხატება. ასე მაგალითად, სოიას აღმონაცენების ნად-გდჰ Km ნადH-ის მიმართ ამონიუმის იონების კონცენტრაციაზეა დამოკიდებული. მისი მაღალი კონცენტრაციის პირობებში ფერმენტის Km ყველა სუბსტრატის მიმართ მუდმივია და არაა დამოკიდებული სხვა ნაერთების კონცენტრაციაზე. გლუტამატი ააქტივებს აღდგენითი ამინირების რეაქციას და ცვლის ფერმენტის სწრაფვას 2-ოქსოგლუტარის მიმართ (Joy, 1973). ნადH-ის დაბალი კონცენტრაცია აინჰიბირებს ბარდას ნად-გდჰ-ს დეზამინირების რეაქციაში (Davies, Teixeira, 1975). ამონიუმის იონები დაბალ კონცენტრაციაში ახდენენ ბარდას ნად-გდჰ ძლიერ აქტივირებას. ფერმენტს ახასიათებს ბიფაზური კინეტიკა უარყოფითი კოოპერატიულობით (Pahlich,Gerlitz, 1980).

შესწავლილია არაორგანული იონების გავლენა გდჰ-ზე. ნაჩვენებია, რომ Cu, Mn, Mg 0,03 mM კონცენტრაციაში არ მოქმედებენ ამერიკული აგავის ნად-გდჰ-ზე (Ramires et al., 1977), თუმცა ძლიერ ააქტივებდნენ ბარდას ღეროების ანალოგიურ ფერმენტს (Gerland, Dennis, 1977). ედტა (კონცენტაციაში 0.01-0,1mM) პირველ შემთხვევაში არ მოქმედებდა ფერმენტის აქტივობაზე, მეორეში კი იწვევდა ძლიერ 57%-იან ინჰიბირებას.

ფერმენტი ინჰიბირდებოდა ედტა-თი (1,6Mmm) 75%-ით, რომელიც აღდგებოდა Ca^{2+} და Mg^{2+} იონების, მაგრამ არა Zn^{2+} გავლენით. ნაჩვენებია, რომ Ca^{2+}-ის იონების გარეშე ლემნას ნად-სპეციფიური გდჰ-ს ამინირების აქტივობა 50%-ით, დეზამინირებისა კი 20%-ით მცირდება. ედტა იწვევს ამინირების აქტივობის სრულ, დეზამინირება კი შედარებით

ნაკლებ-80%-იან ინჰიბირებას. Ca^{2+} 0,02-0,05 mM კონცენტრაციაში ახდენდა ფერმენტის სრულ რეაქტივაციას. ედტა-თი ბარდას ფერმენტის ინაქტივაციის ხარისხი უფრო სუსტია (Sheid et al., 1980; Kindt et al., 1980). მძიმე მეტალთა იონები (Ag^{+}, Hg^{2+}) აინჰიბირებენ გდჰ აქტივობას (Saigusa et al., 1974).

პირდაპირი მტკიცებულება იმის შესახებ, რომ გდჰ მეტალშემცველი ფერმენტია არ არსებობს. ნაჩვენებია თუთიის, როგორც ასოცირებული მეტალის არსებობა სიმინდის ფესვებში (Поликарпочкина, 1975) და პომიდვრის ქლოროპლასტური გდჰ-ს შემადგენლობაში (Игошина, Косицин, 1975). Zn^{2+} ასრულებს მნიშვნელოვან როლს ბარდის ფესვების გდჰ-ს ნატიური კომფორმაციის შენარჩუნებაში (Гильмонов и др., 1981).

ნაჩვენებია არაორგანული ანიონების მათ შორის ნიტრატის მაინჰიბირებელი გავლენა ბარდასა და ჭარხლის გდჰ-ზე (Pahlich et al., 1978).Gგდჰ აქტივობა რეგულირდება ამინომჟავებით და კრებსის ციკლის ზოგიერთი ინტერმადიატით. ასე მაგალითად, სოიას ნად-სპეციფიკური გდჰ ამინირების რეაქციაში აქტივირდება ალანინით და ასპარტატით 11 და 33%, შესაბამისად (King, Wu, 1971).

შესწავლილია გდჰ-ს სინთეზის რეგულაცია. მრავალი უმაღლესი მცენარის მაგალითზე ნაჩვენებია *in vivo* ამონიუმის გავლენით გდჰ აქტივობის გაზრდა. ზოგიერთი ავტორის აზრით გდჰ აქტივობის ზრდა განპირობებულია ფერმენტის *de novo* სინთეზით(Kanamori et al., 1972).

ამონიუმის იონების გარდა, უმაღლესი მცენარეების გდჰ აქტივობაზე მასტიმულირებელი გავლენა აქვს 2-ოქსოგლუტარატს (Rfufy b lh.>1966), L-გლუტამატს (Rfufy b lh.>1966; Sahulka, 1973), β-ინდოლძმარმჟავას (Sahulka, 1972), კინეტინს (Soulen, Olson 1969), ციტოკინინს (Гильманов, Султанбаев 1989), ზოგიერთ ჰერბიციდს (Wu et al., 1977, Ткемаладзе, 1981)

გდჰ განიცდის რეგულაციას სინათლისა და ტემპერატურის გავლენით .

მიუხედავად მრავალრიცხოვანი მონაცემებისა მცენარეული გდჰ-ების შესახებ, დღეისათვის არ არსებობს ერთიანი აზრი ამ ფერმენტის კოფერმენტული სპეციფიურობის, უჯრედშიდა ლოკალიზაციის, მრავლობითი მოლეკულური ფორმების წარმოქმნის

მექანიზმების, აქტივობისა და სინთეზის რეგულაციის შესახებ. თითქმის გაურკვეველია მისი ფიზიოლოგიური როლიც. გას-ის აღმოჩენის და ამონიუმის ასიმილაციის გზის დამკვიდრების შემდეგ, რომლის მიხედვითაც ეს პროცესი გს და გოგატ საშუალებით ხორციელდება. არსებული მონაცემებით გდჰ შეიძლება მონაწილეობდეს ამონიუმის ასიმილაციაში (Loyola-Vergas, Senches de Jimenes, 1984; Srivastava, Singh, 1987; Munoz-Blanco, Cardenas, 1989), მისი ჭარბი რაოდენობის გაუვნებელობაში (Civan, 1979) ან ამინომჟავათა კატაბილიზმში (Robinson et al., 1992).

1.5 მცენარის ადაპტაცია ეკოლოგიური სტრესებისადმი

სიცოცხლე ჩვენს პლანეტაზე მცენარეების გარეშე წარმოუდგენელია. ეჭვგარეშეა, რომ მცენარეები უნიკალური ორგანიზმებია არა მარტო თავისი შესაძლებლობებით მოახდინონ ფოტოსინტეზი და მოლეკულური აზოტის ფიქსაცია, არამედ სწორედ მცენარეების წყალობით პლანეტაზე შესაძლებელი ხდება ეკოლოგიური ბალანსის შენარჩუნება. ჯერ კიდევ მეოცე საუკუნის დასაწყისში გაირკვა, რომ მცენარე დაბინძურებული გარემოს გასუფთავების თვალსაზრისით უაღრესად მნიშვნელოვანი ობიექტიამოვლენაა(Квеситадзе и др., 2005). უმაღლესი მცენარეების ეკოლოგიური პოტენციალი გახდა საფუძველი გაგრძელებულიყო კვლევები მცენარეების დეტოქსიკაციური შესაძლებლობის გამოსავლენად. აღმოჩნდა, რომ მცენარეთა უდიდესი ნაწილი ავლენს უნიკალურ შესაძლებლობებს დააგროვოს დიდი რაოდენობით დაბალმოლეკულური ნივთიერებები _ მეორადი მეტაბოლიტები, რომელთა უდიდეს ნაწილს ახასიათებს მაღალი ფიზიოლოგიური აქტივობა, რაც მცენარის ე.წ. “იმუნური სისტემის” გაძლიერებით გამოიხატება და იცავს პოლუტანტების ტოქსიკური ზემოქმედების, ფიტოპათოგენური მიკროორგანიზმების, მწერებისა და ინფექციისაგან (Квеситадзе и др., 2005). მცენარე ჯანსაღი გარემოს აღდგენის ყველაზე ეფექტურ საშუალებას წარმოადგენს, რადგან ტოქსიკანტს შეითვისებს ბიოსფეროს სამივე ელემენტიდან _ ჰაერიდან, ნიადაგიდან, წყლიდან და ამავე გზით უვნებელი ნაერთების

სახით ისევ ბუნებრივ წრებრუნვაში ჩართავს (პაპუნიძე, სადუნიშვილი, ხატისაშვილი 2005).

გარემოს დაბინძურება შეიძლება გამოწვეული იყოს როგორც ადამიანის მოღვეწეობით (ანთროპოგენულად), ასევე ტოქსიკური აირებით, ელემენტებით, და იმ მიკროორგანიზმების ცხოველმყოფელობით, რომლებიც ტოქსიკურ ნაერთებს გამოყოფენ. ბიოტური და აბიოტური ფაქტორების ზემოქმედების გადასატანად მცენარეული უჯრედი იყენებს შედარებით მაღალ რეგულატორულ დონეს რომელიც ხორციელდება გენების აქტივაციითა და რეპრესიით. არახელსაყრელ პირობებში ახალი გენეტიკური პროგრამების რეალიზაციამდე უჯრედის სიცოცხლისუნარიანობის შენარჩუნება შესაძლებელია მისი განსაკუთრებულ _ სტრესულ მდგომარეობაში გადასვლით, რაც უჯრედის უმთავრესი კოოპერატიული აქტია. ამ დროს უჯრედის საწყისი მდგომარეობის აღდგენა გართულებულია (Веселова 1990). სტრესი ხასიათდება უჯრედის ენერგეტიკული ცვლის დაქვეითებით, სხვადასხვა წარმოშობის ფაქტორების მიმართ რეზისტენტულობის გაძლიერებით, ძირითადი ცილების სინთეზის შენელებით და სტრესული-ცილების გამოჩენით, ასევე დაბალმოლეკულური პროტექტორების ბიოსინთეზის გაძლიერებით. სტრესულ მდგომარეობაში გადსვლას წინ უძღვის უჯრედის ზემგრძნობელობა სხვადასხვა ფაქტორებისადმი და ფიზიოლოგიური პარამეტრების განსხვავებული კომბინაციების ვარიაციების გაზრდა (Веселова 1990).

ადამიანებისა და ცხოველების ორგანიზმებში სტრესი განსაკუთრებული მდგომარეობაა. ამ ტერმინს მიმართავენ ფიზიკური (სიცივე, მაღალი ტემპერატურა, ატმოსფერული წნევის მატება ან ვარდნა, მაიონიზირებელი გამოსხივება), ქიმიური (ტოქსიკური და გამაღიზიანებელი ნივთიერება), ბიოლოგიური (მიკრობებითა და ვირუსებით დასნებოვნება, ტრავმა) ფსიქიური და ასევე კომბინირებული გამღიზიანებ-ლების აღსანიშნავად. ეკოლოგიაში სტრესს გამოიყენებენ მცენარეების მიმართ, როცა ისინი განიცდიან ექსტრემალური ფაქტორების ზემოქმედებას. სტრესის კონცეფცია ბიოლოგიაში პირველად კანადელმა ფიზიოლოგმა ჰანს სელიემ შეიმუშავა, რომლის თანახმად ნებისმიერი საკმაოდ ძლიერი გარეგანი სტიმული (სტრესორი) იწვევს სტრესულ

მდგომარეობას, გამოხატულს ორგანიზმის არასპეციფიური პასუხით, რასაც მან უწოდა ზოგადი ადაპტაციური სინდრომი (Селье, 1972).

მცენარეებს ისევე როგორც ცხოველებს გარემოსთან შეგუების უსასრულოდ მრავალფეროვანი ფორმები გააჩნიათ. იმისათვის რომ გაზარდონ არსებობის (გადარჩენის) შანსი მთელი მცენარეული და ცხოველური სამყარო თავისი არსებობის მანძილზე განიცდის მიზანმიმართულ შემგუებლობას გარემოსადმი ანუ ადაპტაციას შეზღუდულ გარემო პირობებთან: წყალთან, ჰაერთან, მზის სინათლესთან და სხვა (Культиасов 1982).

ეკოლოგიური სტრესებისადმი მცენარის ადაპტაციის პროცესში ბიოლოგიური ორგანიზაციის სხვადასხვა დონეზე (უჯრედი, ორგანიზმი, პოპულაცია) წარმოიქმნება ზოგადი მექანიზმების ფუნქციონირების გარკვეული იერარქია. უჯრედულ დონეზე ადაპტაციისას მნიშვნელოვან როლს იძენს ჰიდროლიზისა და კატაბოლიზმის თვითრეგულირების მექანიზმების თანდათანობითი შესუსტება მეტაბოლიზმის ბიოსინთეზური რეაქციების დათრგუნვამდე. უჯრედის ადაპტაციაში უმნიშვნელოვანესია ძირითადი მეტაბოლური გზების კომპენსატორული გადაკვეთა, განსხვავებული რეაქციების პოტენციური დონეების რეალიზაცია, ნივთიერებათა ცვლის სპეციფიკური პროდუქტების ხელახალი წარმოქმნა და სხვა (Удивенко 1990).

მცენერეებში ადაპტაციური მექანიზმების აღძვრას იწვევენ სტრესული ფაქტორები, როგორებიცაა კლიმატური და ნიადაგობრივი, ასევე ქსენობიოტიკები. კლიმატურ ფაქტორებში შედის ტემპერატურა, სინათლე, ტენიანობა, სეზონურობა. ნიადაგობრივ ფაქტორებიდან არსანიშნავია სიმბიოზური მიკროორგანიზმების წყარო, რაც აუცილებელია მარცვლოვანი და სხვა კულტურების განვითარებისათვის. განსაკუთრებით მნიშვნელოვანია ცოცხალ ორგანიზმებზე მოქმედი ანთროპოგენული ფაქტორები, რომლებიც გულისხმობენ ეკოსისტემის დაბინძურებას ქსენობიოტიკებით (Удивенко 1990). გარემოს ცვლილებებისადმი ტოლერანტული ზონის საზღრებში ადაპტაციას უჯრედი ახდენს ფერმენტ-სუბსტრატის ურთიერთმოქმედების სწრაფი მოდიფიკაციის გზითა და რეგულატორული ფერმენტების ინდუქციით.

სტრესული ზემოქმედებისას ცოცხალ უჯრედზე ადგილი აქვს ცვლილებებს მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტული სისტემების აქტივობებში. ინდუქციას ასეთ ზემოქმედებაზე განიცდიან მთელი რიგი ფერმენტები. დადგენლია ჟანგვითი ფერმენტების და კერძოდ მონოოქსიგენაზური სისტემის როლი მცენარის გარემო სტრესებისადმი ადაპტაციაში (Варазашвили и др., 2000, Varazashvili et al., 2001). ლიტერატურული მონაცემებით ტემპერატურული აკლიმატიზაციისას ცხოველური ორგანიზმებისათვის დამახასიათებელია რიგი ფერმენტების აქტივობების კომპენსატორული ცვლილება (Хочачка ,Сомеро, 1975). მათ რიცხვს მიეკუთვნება კრებსის ციკლისა და ცილის სინთეზში მონაწილე ფერმენტებიც. მაგ. ექსტრემალური ფაქტორების ზეგავლენით ადგილი აქვს ფესვებში გდჰ აქტივობის მნიშვნელოვან მატებას (Шатилов 1987), დაბალტემპერატურული სტრესისას ადგილი აქვს სიცივის შოკის ცილების სინთეზსს. დადგენილია, რომ ტემპერატურის დაცემა მცენარეულ უჯრედებში იწვევს 18 დან 93 კდ მოლეკულური მასის სტრესული ცილების სინთეზს (Воиников 1990).

1.5.1 ფიტოპათოგენური ბაქტერიებისა და სოკოთი ინფიცირების გავლენა აზოტის მეტაბოლიზმზე

გარემოს სტრეს-ფაქტორებიდან განსაკუთრებით საინტერესოა ინფიცირებული მცენარის უჯრედში აღძრული პროცესების კვლევა, რომლის დროსაც იცვლება ჟანგვითი ფერმენტული სისტემების აქტივობები. მცენარის ფიზიოლოგიურ და ბიოქიმიურ თვისებებზე მოქმედი მრავალ ფიტოპათოგენური ბაქტერიებიდან და სოკოებიდან აღსანიშნავია ბაქტერიული კიბოსა და შავი ბაქრერიული სილაქავის გამომწვევი მიკროორგანიზმები და *Fusarium*-ის გვარის *(F. solani* და *F.sambucinum)* ფიტოპათოგენური სოკოები.

ბაქტერიული კიბო ერთერთი ფართოდ გავრცელებული და საშიში დაავადებაა, რომელიც ვლინდება ჭურჭლოვანი სისტემის დიფუზიური დაზიანებისას მცენარის ჭკნობით და ლოკალური დაზიანების შემთხვევაში ნაყოფის ლაქიანობით.

დაავადების გამომწვევია ბაქტერია *Corynebacterium michiganense*. მცენარეში ბაქტერიები აღწევენ მექანიკურად დაზიანებული უბნებიდან და მრავლდებიან ჭურჭლოვან სისტემაში. ინფექცია ინახება გრუნტში, მცენარეულ ნარჩენებზე არაუმეტეს ერთი წლისა, თესლებში კი 2-3-წლით.

შავი ბაქრერიული სილაქავე ფართოდ გავრცელებული დაავადებაა, ვითარდება როგორც ღია, ისე დახურულ გრუნტში. მცენარეები ავადდებიან ვეგეტაციის მთელი პერიოდის განმავლობაში. განსაკუთრებით მგრძნობიარენი არიან ახალგაზრდა ქსოვილები. დაავადების გამომწვევია ჩხირისებური ბაქტერია *Xanthomonas vesicatoria*. ინფექციის წყაროა დაავადებული მცენარის ნარჩენები და თესლები. ფოთლებში ბაქტერიები აღწევენ ბაგეების, ხოლო ნაყოფებში მექანიკურად დაზიანებული ადგილებიდან.

Fusarium-ის გვარის *(F. solani* და *F.sambucinum)* ფიტოპათოგენური სოკოები იწვევენ ფესვების, ნაყოფებისა და თესლების ლპობას, ასევე ტრაქეომიკოზურ ჭურჭლოვან დაზიანებას სხვადასხვა კლასის მცენარეებში (Mosolov 1976; Кладницкая 1994).

ფიტოპათოგენური ბაქტერიების, სოკოების და ვირუსების გავლენა მცენარის მეტაბოლიზმზე, ერთერთი ნაკლებად შესწავლილი საკითხია ბიოლოგიაში. ამასთან ფიტოპათოგენურ მიკროორგანიზმებზე მცენარის თავდაცვის საპასუხო მექანიზმების სპეციფიურობისა და ზოგადი კანონზომიერების გამოვლენას გააჩნია როგორც თეორიული ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა. ვინაიდან ამ დროს წარმოიქმნებიან უჯრედული მეტაბოლიტები, რომლებიც ცვლიან ენერგეტიკულ პროცესებს. ისინი წარმოადგენენ ატფ-ის წყაროს აღდგენილ პირიდინნუკლეოტიდებში და მცენარეულ უჯრედებში სინთეზური პროცესების წარმართვაში. შესწავლილია ასევე ფერმენტების როლი მცენარეულ ქსოვილებში შეჭრილი ინფექციის აღმძვრელის მიმართ დაცვით რეაქციებში. განსაკუთრებული ყურადღება ენიჭება ფერმენტების იმ ახალი იზოზიმების წარმოქმნას რომელიც დამახასიათებელია მხოლოდ დაზიანებული მცენარისათვის. მცენარეებში ბაქტერიული ინფექციის გავრცელებისას ორგანიზმის ბრძოლისუნარიანობის ხარისხი განისაზღვრება პარაზიტის მიერ ინდუცირებული მეტაბილიტების

გაუვნებელყოფით. ფიტოპათოგენური ბაქტერიებით დაზიანებული მცენარის ქსოვილებში ტოქსიკური მეტაბოლიტების გაუვნებელყოფისას უმეტეს შემთხვევაში იმატებს ჟანგვა-აღდგენითი ფერმენტების აქტივობები. ბიოლოგიური ჟანგვის პროცესში კი სასურველი პოტენციალის დამყარება დეჰიდროგენაზებს აკისრიათ, ისინი ასევე გავლენას ახდენენ მცენარის დაცვის მექანიზმებში მონაწილე პოლიფენოლ – ქინონის გარდაქმნის სისტემაზე. ჟანგვის საწყისი სტადია დეზამინირებაა (რომლის საშუალებითაც ყველა α-ამინომჟავისაგან ერთნაირად α-ამინოჯგუფის მოცილება ხდება) და მასში უაღრესად დიდი მნიშვნელობა ტრანსამინაზურ და დეჰიდროგენაზულ სისტემებს ენიჭება. ტრანსამინირების გზით α-ამინომჟავათა ამინოჯგუფის საბოლოო აქცეპტორს α-კეტოგლუტარატი წარმოადგენს, ხოლო საბოლოო კოლექტორს გლუტამატი. გლუტამინმჟავა შემდგომში გლუტამატდეჰიდროგენაზას მოქმედებით ჟანგვით დეზამინირებას განიცდის. ამ რეაქციით გლუტამინმჟავა ამინოჯგუფს ესტაფეტურად გადასცემს რეაქციებს, რომლებსაც აზოტოვანი ცვლის საბოლოო პროდუქტების წარმოქმნასთან მივყავართ (გორდეზიანი, ხატისაშვილი,კირთაძე 2004).

მცენარის ადაპტაციურ პროცესებში შესწავლილი და დადასტურებულია მონოოქსიგენაზური სისტემის აქტიური მონაწილეობა სოკო *Fusarium*-ით ინფიცირებისას. მონოოქსიგენაზური სისტემის (ციტოქრომ P-450 და PP-420) ინდუქცია მიუთითებს ინფექციისადმი მცენარის საპასუხო რეაქციას (ვარაზაშვილი, ყურაშვილი, ფრუიძე, გორდეზიანი 2000). მცენარეში სოკოვანი და ბაქტერიული დაზიანებისას "კლასიკური" ფერმენტების პოლიფენოლოქსიდაზასა და პეროქსიდაზას აქტივობის ცვლილებების შესწავლასთან ერთად, ასევე საინტერესია იმ ფერმენტების შესწავლა, რომლებიც როგორც ცნობილია ამჟღავნებდნენ მაღალ აქტივობას აღნიშნული დაავადებების დროს მცენარის მედეგობის შენარჩუნებაში (Nemeth et al., 1969.) დაზიანებული მცენარის დაავადების აღმძვრელის ტოქსიკურ მეტაბოლიტებზე გავლენას ახდენენ აზოტის ცვლის ძირითადი ფერმენტებიც. ცნობილია, რომ მათი აქტივობის მატება დაკავშირებულია მცენარის დაცვით მექანიზმებში მათ უშუალო მონაწილეობასთან (Матышевская., 1975).

ნაჩვენებია ლობიოს *P. Phaseolicola*-თი დასნებოვნებულ ფოთლებში ნად_დამოკიდებული გდჰ-ს აქტივობის მნიშვნელოვანი (დაახლოებით 10-ჯერადი) მატება (Rudolf, Stehman 1968). ამ ფერმენტის ელექტროფორეზისას პოლიაკრილამიდის გელში აღმოჩენილია იზოზიმები. სპეციალური მეთოდების გამოყენებით ნანახია, რომ ბაქტერიული წარმოშობის გდჰ-ს იზოზიმების რაოდენობა მცენარის დაზიანებულ ქსოვილებში შეადგენს დაახლოებით 50%-ს (Rudolf, Stehman 1968; Rudolf, 1971).

ცნობილია, რომ აზოტის ცვლის ძირითადი ფერმენტები გლუტამინსინთეტაზა, გლუტამატდეჰიდროგენაზა და ასევე ენერგეტიკული ცვლის უმნიშვნელოვანესი ფერმენტი მალატდეჰიდროგენაზა, შესაძლებელია მონაწილეობდნენ დეტოქსიკაციაში ცილოვანი პროდუქტების დეგრადაციისას, რომალსაც ადგილი აქვს ისეთი აბიოტური და ბიოტური სტრესების დროს, როგორიცაა მარიალიანობა, გვალვა და ინფიცირება. ავტორები (Koldasova et al., 1997; Tsvetkova et al., 1995) თვლიან, რომ გდჰ-სა და მდჰ-ს მაღალი აქტივობის მქონე მცენარეები უკეთ ეგუებიან სტრესულ პირობებს და ასევე ინარჩუნებენ მაღალპროდუქტიულობას.

გამოვლენილია ურთერთკავშირი ბაქტერია *Xanthomonas vesicatoria*-თი დასნებოვნებისას პომიდვრის ფოთლებში აზოტის შემცველობასა და მცენარის გამძლეობისადმი. დადგენილია, რომ ახალგაზრდა ფოთლები შეიცავს საერთო და ხსნადი აზოტის უფრო მეტ რაოდენობას ვიდრე იმავე მცენარის ზრდადასრულებული ფოთლები. ზრდადასრულებულ ფოთლებში ბაქტერიული სილაქავის სუსტად განვითარება დაკავშირებულია საერთო და ხსნადი აზოტის სიმცირესთან. აზოტშემცველ ნივთიერებებთან ერთად, მცენარეებში ბაქტერიული ინფექციებისას იცვლება ამიაკის რაოდენობაც. რაც უფრო მატად გამოიხატება პომიდვრის ფოთლების ბაქტერია *Xanthomonas vesicatoria*-თი დასნებოვნებისას (Naydu, Walker, 1961). სავარაუდოდ ამიაკის კონცენტრაციის მატება გამოწვეულია ამინომჟავების ჟანგვითი დეზამინირების რეაქციების გაძლიერების შედეგად.

გლუტამინის მჟავა, რომელსაც უჭირავს მნიშვნელოვანი ადგილი მცენარის აზოტოვან ცვლაში, *Corynebacterium michiganense*_თი დაზიანებულ პომიდვრის

ფოთლებში მეტია, ვიდრე დაუზიანებელში, რაც შესაძლებელია გამოწვეული ყოფილიყო კრებსის ციკლის ინტერმედიატის α-კეტოგლუტარ მჟავის აღდგენითი ამინირების რეაქციების ინტენსიფიკაციით (Пономарева, 1967).

ამრიგად არსებული მონაცენებით გდჰ-ს ჟანგვითი დეზამინირებისა და აღდგენითი ამინირების რეაქციები იმატებს როგორც ბაქტერიული ისე სოკოვანი დაზიანებებისას, რაც სავარაუდოდ უკავშირდება მცენარის ზემგრძნობელობის განვითარებას სოკოვანი და ბაქტერიული ინფექციების დროს (Матышевская., 1975).

1.5.2 **გარემოს დაბინძურება ორგანული პოლუტანტებით**

კაცობრიობა მრავალფეროვანი ნივთიერებების გარემოცვაში ცხოვრობს. ადამიანის ქიმიური მოღვაწეობა დიდი ხანია გასცდა ბიოსფეროს პროცესების დონეს, ცივილიზაციის მანძილზე შექმნილი ყოველი ახალი ნაერთი მთელს მსოფლიოში შესაძლოა ქიმიური დაავადების _ მოწამვლის მიზეზი გახდეს. რაოდენ გასაკვირიც არ უნდა იყოს მეცნიერებმა XX საუკუნის შუა წლებში აღმოაჩინეს უცხო ნაერთების მუდმივად არსებობის ალბათობა ცოცხალ ორგანიზმებში და მაშინვე განმარტეს, რომ ამ ნივთიერებებს ორგანიზმი ვერ იყენებს ვერც ენერგიის წარმოქმნისა და ვერც თავისი რაიმე ნაწილის შენებისათვის (Бреслер В.М. 2002). Aამიტომ ლიტერატურაში, როგორც სინონიმი ფართოდ დამკვიდრდა ტერმინი “ქსენობიოტიკი” (რაც ბერძნულად-“*xenos*-უცხოს, *bios*-სიცოცხლეს ნიშნავს). ეს ნივთიერებები და აგრეთვე მათი აბიოტური და ბიოტური გარდაქმნის შედეგად მიღებული პროდუქტები ხშირად ტოქსიკური ბუნებისაა. პლანეტის ერთ-ერთ უმთავრეს პრობლემას წარმოადგენს პოლუტანტების მასშტაბური გავრცელება, ტოქსიურობა და მათი მუდმივად არსებობის ალბათობა ცოცხალ ორგანიზმებში (Кулинский 1999). გარემოს დაბინძურება ტოქსიკური მიკროელემენტებით (პოლუტანტებით) პირველ რიგში აისახება ბავშვებისა და მოზარდების ჯანმრთელობაზე, ვინაიდან სხვადასხვა მავნე ნივთიერებების ინტენსიური დაგროვება ჯერ კიდევ პლაცენტაში მიმდინარეობს. ცნობილია, რომ ზოგიერთი ქსენობიოტიკის მოქმედება იწვევს ცნს სერიოზულ დაზიანებას - ინტელექტის

დაქვეითებას, ნევროზული რეაქციების სიხშირის მომატებას და ქცევის ანომალიებს. ნაწილი ქსენობიოტიკებისა (ნიტრატები, გოგირდწყალბადი, ქლორორგანული ნაერთები) აზიანებენ ენდოკრინულ სისტემას. ეკოპათოგენების უმრავლესობა ადვილად ერთვება ლიპიდურ და უფრო მეტად უჯრედის ბიომემბრანულ სტრუქტურებში მათი ფუნქციის მოშლით (დაგელი 2002)

ადამიანის ორგანიზმზე განუწყვეტელი მოქმედებით, ეკოპათოგენები აბრკოლებენ ადაპტაციურ - დამცველობითი მექანიზმების მოქმედებას, რაც იწვევს მეტაბოლური პროცესების დარღვევებს და საბოლოო ჯამში დაავადების განვითარებას. ამგვარად, ადამიანმა თავისი მოთხოვნილების შესაბამისად, გარემოზე მავნე ზემოქმედებით შექმნა ანთროპოგენული გარემო პირობები, რომელიც თავისი ნიშნით დამღუპველია და ეწინააღმდეგება თვით ადამიანის ბიოლოგიურ არსს.

ეს იმდენად მიზნობრივად მოხდა, რომ ადამიანს არ აღმოაჩნდა ამ ცვლილებებისადმი შეგუების საშუალებები, რამაც გამოიწვია ადაპტაციური და ბიოქიმიური მექანიზმების დათრგუნვა მათი ფუნქციონირების მოშლითა და ტექნიკური პროგრესის თანმხლები ე.წ. "ცივილიზაციის დაავადების" ფორმირებით, როგორებიცაა: ათეროსკლეროზი, II ტიპის შაქრიანი დიაბეტი, ჰიპერტონია, მეტაბოლური იმუნოდეპრესია, სასუნთქი გზების ქრონიკული დაავადებები, ფსიქიური დეპრესია, ონკოლოგიური პათოლოგიები. ანთროპოგენული ზემოქმედებისაგან გარემოს დაცვა და ადამიანის ჯანმრთელობა ერთმენეთთან მჭიდრო კავშირშია და აქტიურ მოქმედებას მოითხოვს. უახლესი ტექნოლოგიები: ფილტრები, კატალიზატორები გამწმენდი დანადგარები, საგრძნობლად ამცირებენ ტოქსიკური ნაერთების შემცველობას ჰაერში, წყლებსა და საწარმოო ნარჩენებში. ეკოლოგიური მდგომარეობის გამოსწორებისათვის აუცილებელია ეკოპათოგენების მოცილება და მათი გაუვნებელყოფა, რაც ყველაზე ეფექტური და ეკონომიური ფიტორემედიაციული ტექნოლოგიების გამოყენებითაა შესაძლებელი. მცენარეებს თავის უმთავრეს ფუნქციასთან ერთად იყონ ენერგიისა და საკვების უმნიშვნელოვანესი რესურსები, შესწევთ უნარი პლანეტაზე ეკოლოგიური ბალანსი შეინარჩუნონ _ მცენარე, როგორც "მწვანე ფილტრი" შთანთქავს და

აუვნებელყოფს გარემოდან მოხვედრილ ტოქსიკურ ნაერთებს.

ეკოსისტემის მცენარეულ საფარზე მოქმედი გარემოს ტოქსიურ ნაერთთა სტაბილურობა და არსებობის ხანგრძლივობა განსაზღვრულია მათი აბიოტური გარდაქმნით ან მცენარეებით მათი დეტოქსიკაციით, რაც გულისხმობს მცენარეში პოლუტანტის შეღწევას და ღრმა გარდაქმნას უჯრედისათვის ტიპიური მეტაბოლიტების წარმოქმნით (Korte et. al., 2000). დეტოქსიკაციის ინტენსივობა დამოკიდებულია მცენარეში პოლუტანტის შეღწევის სიჩქარესა და ასევე განსაზღვრულ კონცენტრაციაზე, რომელიც არ უნდა აღემატებოდეს მეტაბოლურ დოზას რათა არ გამოიწვიოს უჯრედის ულტრასტრუქტურისა და ნივთიერებათა ცვლის მნიშვნელოვანი ცვლილება.

ორგანული ტიპის ტოქსიკანტის გარემოზე ზემოქმედების თავისებურება გასათვალისწინებელია გარემოს ეკომონიტორინგისა და რემედიაციელი ღონოსძიებების ჩატარებისას. ფიტორემედიაცია, რაც გულისხმობს მცენარეებისა და რიზოსფეროს მიკროორგანიზმების გამოყენებას ეკოტოქსიკანტების შთანთქმისა და გაუვნებელობის მიზნით გარემოს გასუფთავების რემედიაციული ტექნოლოგიებიდან ყველაზე მნიშვნელოვანია (Meagher,2000). ფიტორემედიაციის საშუალებით ხდება ნიადაგებისა და წყლების გასუფთავება ისეთი ტოქსიკური ნაერთებისაგან როგორიცაა ტრინიტროტოლუოლი, ნიტრობენზოლი.

ტოქსიკანტის იდენტიფიკაციისა და მისი კონცენტრაციის დადგენის გარდა საჭიროა აგრეთვე ინფორმაცია იმის შესახებ თუ რომელი მცენარეებია გავრცელებული მოცემულ ადგილზე, შერჩევის კრიტერიუმებია ტოლერანტობა ექსტრემალურ ტემპერატურაზე, მარილიანობის, ტოქსიკანტების მიმართ, რეზისტენტულობა სტრესს_ფაქტორების მიმართ. მცენარეების მიერ აღნინიშნული ტოქსიკანტების შეთვისების უნარისა და მათი დეტოქსიკაციის პოტენციალის შესწავლის გარდა აქტუალურია ასევე სხვა ბიოქიმიური მახასიათებლების შესწავლაც. რემედიაციისათვის გამოყენებული ყველაზე მნიშვნელოვანი ნაწილია ფესვი, რადგან ტოქსიკანტების ბიოდეგრადაცია ხდება ფესვის ექსუდატით მიკროორგანიზმების სტიმულაციის გზით ან ფესვის სისტემაში არსებული ფერმენტული სისტემების საშუალებით (Introduction to

Phytore 2000). ხშირ შემთხვევაში მონოკულტურის შემთხვევასთან შედარებით ეფექტურია შერეული სახეობების გამოყენება. სასურველია შერჩეული მცენარე ადაპტირებული იყოს ლოკალურ გარემოსთან. ორგანული ტოქსიკანტების მაღალი კონცენტრაციები უფრო ადვილი ასატანია მცენარეებისათვის, ვიდრე მიკროორგანიზმებისათვის (Miller et.al.,1997).

დამბინძურებლის დეგრადაციას მცენარე რიზოსფეროში ახდენს, რაც განპირობებულია მცენარესთან მიკრობებისა და სოკოების სიმბიოზით, ასევე მცენარეთა ექსუდატებში შემავალი ფერმენტების მოქმედებით. ტოქსიკანტის დეგრადაციის სხვა შესაძლო მექანიზმია მცენარეში მისი გარდაქმნა. ზოგ მცენარეს შეუძლია შეითვისოს ტოქსიკური ნაერთები და მათი დეტოქსიკაცია მოახდინოს. მაგ. ტრიქლორეთილენმა შეიძლება დეგრადაცია განიცადოს კანადურ ვერხვში*(Populus pyramidalo)* და მცენარის მიერ ტოქსიკანტის ნახშირბადი გამოყენებულ იქნეს ქსოვილთა ზრდისათვის.

მცენარეულ უჯრედში ტოქსიკური ნაერთების ტრანსფორმაციის პროცესი სამ ფაზად იყოფა: აქტივაციის რეაქცია, კონიუგაცია და კომპარტმენტალიზაცია. პირველი ფაზის დროს ქსენობიოტიკების მოლეკულები ფერმენტული გარდაქმნების ხარჯზე ჰიდროფილურ ჯგუფს იძენს, რაც მნიშვნელოვად ზრდის ტოქსიკანტის მოლეკულის პოლარობას და რეაქციისუნარიანობას. ეს გარდაქმნები ხელს უწყობენ წარმოქმნილი მეტაბოლიტების თვისობის ამაღლებას იმ ფერმენტების მიმართ, რომლებიც მათ შემდგომ გარდაქმნებს აკატალიზებენ. მეორე ფაზის - კონიუგაციის დროს ქსენობიოტიკის ან პირველი ფაზის დროს გააქტივებული მეტაბოლიტის დაკავშირება ხდება ენდოგენურ ჰიდროფილურ მოლეკულასთან. მიღებული კონუგატი მეტად პოლარული და ნაკლებად ტოქსიკურია.

მესამე ფაზის დროს ხდება არააქტიური, წყალში ხსნადი კონუგატების კომპარტმენტალიზაცია – ვაკუოლებში ან უჯრედის კედელში. ეს არის შიდაუჯრედული პროცესი, რომლის შედეგადაც ხდება ტოქსიკანტის ქიმიური დაკავშირება უჯრედის ენდოგენურ ნივთიერებებთან (ცილებთან, პეპტიდებთან, ამინომჟავებთან, ორგანულ მჟავებთან, დაბალმოლეკულურ შაქრებთან და პოლისაქარიდებთან, პექტინურ ნაერთებთან, ლიგნინთან და სხვა) კონუგაცია არის ერთ-ერთი ყველაზე გავრცელებული

თავდაცვითი საშუალება, რომელსაც მცენარე ტოქსიკური ნაერთების ზემოქმედებისას იყენებს (Юрин 2002).

არომატული ნახშირწყალბადების შემთხვევაში უტილიზაციის ერთერთი მნიშვნელოვანი გზა უჯრედში შეჭრილი ქსენობიოტიკების ღრმა ჟანგვითი გარდაქმნაა, რაც ბირთვის გახლეჩით და უჯრედისათვის ტიპიური მეტაბოლიტების წარმოქმნით მიმდინარეობს (Korte et al., 2000). არენების მრავალი წარმოებულის ბიოტრანსფორმაციის პროცესში მნიშვნელოვანი ეტაპი არომატული ბირთვის ჰიდროქსილირებაა, რომელიც მთელი შემდგომი პროცესის მალიმიტირებელი სტადიაა. მცენარეში ასე გარდაიქმნება მაღალტოქსიკური ნაერთი ნიტრობენზოლი, რომელიც გამოირჩევა სტაბილურობით და არ განიცდის თვითდაჟანგვას (Mithaishvili et al 2005). ბიოდეგრადაცია ზოგიერთი ქსენობიოტიკისათვის როგორც ნიტრობენზოლისათვის ასევე ფეთქებადი ნივთიერებების და 2,4,6-ტრინიტროტოლუოლისათვის ძირითადად აღდგენის გზით მიმდინარეობს.

ტნტ სამხედრო არსენალში არსებულ ამაფეთქებელს წარმოადგენს. ამ ნაერთს ახასიათებს აშკარად გამოხატული ტოქსიკური ზემოქმედება ყველა ბიოლოგიურ ობიექტზე და ხანგრძლივი მდგრადობა ბუნებრივ პირობებში. ცნობილია, რომ ამ ნივთიერებთან კონტაქტი იწვევს სხვადასხვა ფორმის პროფესიულ დაავადებებსა და მოწამვლას. ტნტ ადამიანის ორგანიზმში აღწევს კუჭ-ნაწლავის ტრაქტიდან, კანიდან და ფილტვებიდან, შემდეგ კი გროვდება ღვიძლში, თირკმელებსა და ცხიმოვან ქსოვილებში (EPA. 1991,a). კლასიფიკაციით ტნტ მიეკუთვნება კანცეროგენურ ტოქსიკანტს. წყალში დაბალი ხსნადობის გამო იგი ნიადაგში ძირითადად არსებობს კრისტალური ფორმით, საიდანაც თანდათან ჩაირეცხება მიწისქვეშა წყლებში. საქართველოს სამხედრო პოლიგონების ლოკალურ უბნებში ანალიზის საფუძველზე ნიადაგის ნიმუშებში ტყვიისა და 2,4,6-ტნტ-ს შემცველობა საკმაოდ აღემატება ზღვრულად დასაშვებ კონცენტრაციებს (ადამია 2003).

მრავალ ორგანიზმებში ტნტ ამინოდინიტროტოლუოლამდე და დიამინონიტროტოლუოლამდე აღდგება. ნიტროარომატული ტოქსიკანტების მინერალიზაციის უნარის მქონე ზოგიერთი მიკროორგანიზმი ტნტ-ს უფრო ღრმად-

ტრიამინოტოლუოლამდე აღადგენს, რომელიც შემდგომ შედარებით ადვილად იჟანგება ოქსიდაზებით. ნიტროჯგუფების აღდგენის რეაქციებს ნიტრორედუქტაზები აკატალიზებენ (პაპუნიძე, სადუნიშვილი, ხატისაშვილი 2005).

ადამიანის ორგანიზმში ტნტ აღწევს კუჭნაწლავის ტრაქტიდან, კანიდან და ფილტვებიდან, შემდგომში კი გროვდება ღვიძლში, თირკმლებსა და ცხიმოვან ქსოვილებში (El-Havari et al., 1981). იგი იწვევს ქრონიკულ დაავადებებს (Opresko, 1998). EPA-ს (Enviromental Protection Agensy) კლასიფიკაციით ტნტ წარმოადგენს C-ჯგუფის კანცეროგენულ ტოქსიკანტს (EPA,1991 a;b).

არომატულ ბირთვთან მყოფი ნიტროჯგუფის კომპლექსური აღდგენა ამინო-ჯგუფებამდე ამცირებს ამ ტოქსიკური ნაერთების მუტაგენურ ეფექტს (Zachariah,P.K., and M.R. Juhau, 1974; Won et.al., 1976; Styles, J.A., and M.F.Cross,1983; Vaatanen, A.R. 1997; Tadros et.al.,2000).Nნიტროჯგუფების აბიოტურ აღდგენას ამინებამდე ადგილი აქვს სედიმენტში, ნიადაგსა და გრუნტის წყლებში (Glaus et.al.,1992; Klausenet.al.,1995; Whiteway et al., 1998 Hofstetter et al., 1999). ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით ტნტ-ს ბიორემედიაცია ხორციელდება მცენარის და სოკოების ნიტრორედუქტაზული ფერმენტების მიერ (Herade Omura, 1980; Braynt et al., 1981; Bryant, DeLuca, 1991; Braynt et al., 1991; Anlezark et al., 1992;Blasco, Castillo, 1993; Bumprus, Tatarko, 1994; Goodwin et al.,1998).

ცნობილია, რომ მიკროორგანიზმებისა და უმაღლესი ეუკარიოტებისაგან მიღებული უჯრედული ექსტრაქტები *in vitro* პირობებში ტნტ-ს აღადგენენ ორი ელექტრონით. ტოქსიკანტის აღდგენის პროდუქტებს წარმოადგენენ: ნიტროზო ჰიდროქსილამინო- და ამინოწარმოებულები. აღდგენის პროცესი ანაერობულია და არ ფორმირდება რადიკალები (Kinouchi et al., 1982; Kitts at al., 2000; Kobori et al.,2001; Loveling et al., 2001; Oh et al., 2001). ნიტრორედუქტაზული ფერმენტები ნიტროჯგუფების აღდგენას ახდენენ ელექტრონული წყვილებით, რომელთა დონორად ითვლება აღდგენილი პირიდინნუკლეოტიდები (Thornton-Manning et al., 1989; Somerville et al., 1995; Watanabe at al.,1998; Pak et al., 2000; Richter,Smets, 2000). ნიტროარომატულ ნაერთებს აღადგენს სხვა ფერმენტებიც: ალდეჰიდოქსიდაზა(Yamashina et.al.,1953; Wolper et. al.,1973), ციტოქრომ b_5 რედუქტაზა

(Mason Holtzmann, 1975; Zenno et.al.,1996; Zenno et.al.,1998), ჰიდროგენაზები (DelCampo et al.,1966; McCormick et al.,1976), ქსანტინოქსიდაზა (Buedining, Jollife, 1946), Co-დეჰიდროგენაზა (Huang et.al.,2000) და სხვა.

ნიტროარომატული ნაერთების ტოქსიურობას ნიტროზო- და ჰიდროქსილ-ამინოჯგუფები განაპირობებენ (Channon et.al., 1944; Brooks et al., 1997; Berthe-Corti et.al., 1998; Banerjee et, al., 1999). არომატული ნიტრონაერთები ურთიერთქმედებენ უჯრედის ბიომოლეკულებთან და იწვევენ ქიმიურ მუტაგენეზს (Spanggord et.al.,1982 Rafii et.al.,1994; Honeycutt et.al.,1996; Gong et.al., 1999). მიკროორგანიზმებით ტნტ-ს გარდაქმნის ორ გზას გამოყოფენ: პირველი გულისხმობს აერობულ პირობებში ნიტროჯგუფების მოცილებას ნიტრიტის სახით და მის შემდგომ აღდგენას ამონიუმამდე; მეორე - წარმოადგენს ნიტროჯგუფის ამინოჯგუფამდე აღდგენას და მის შემდგომ მეტაბოლიზებას, როგორც აერობულ, ისე ანაერობულ პირობებში (Esteve-Núñez et.al.,2001).

Pseudomonas-ს შტამები ტნტ-ს აზოტის წყაროდ იყენებენ. ისინი ტოქსიკანტის 85%-ს უჯრედის ორგანულ ნაერთებში ჩართავენ, რაც თვალსაჩინო მაგალითია, როგორ ერთვება ქსენობიოტიკის ტოქსიურობის განმაპირობებელი ატომი მიკროორგანიზმების ნორმალური ცხოველქმედების პროცესში და როგორ გამოიყენება იგი შიდაუჯრედული ნაერთების საშენ მასალად. საინტერესოა, რომ ამ გვარის ერთ-ერთი შტამის (JLR*11*) კვლევისას მიღებული შედეგების თანახმად, ტნტ სუნთქვითი ჯაჭვის ტერმინალური აქცეპტორის როლში გვევლინება და ამით მისი აღდგენა ატფ-ის სინთეზთან შეუღლებული ხდება (Esteve-Núñez et.al.,2001). *Pseudomonas putida* JLR*11* ათავისუფლებს აზოტს 2,4,6-ტნტ-საგან, როგორც ნიტრატის ასევე ამონიუმის სახით და ტნტ-ს აზოტი ასიმილირდება (GS-GOGAT)-ის გზით, როგორც ხდება ნიტრატებიდან და ნიტრიტებიდან აღდგენილი ამონიუმის ასიმილაცია (Caballero 2005).

უცხო ნართების დეტოქსიკაციის პროცესში მონაწილეობენ ფერმენტები, რომლებიც აკატალიზებენ კონიუგაციისა და ჟანგვით რეაქციებს (Kvesitadze et.al, .2005, 2006). ნაჩვენებია ასევე მათი ინდუქცია ქსენობიოტიკების გავლენით (Khatisashvili et. al., 1997). ქსენობიოტიკის ჟანგვითი დეგრადაცია ოპტიმალურად თავსდება უჯრედული

მეტაბოლიზმის საერთო პროფილში (Гордезиани 1987) მცენარეები ქსენობიოტიკების დეტოქსიკაციას ფენოლოქსიდაზების, პეროქსიდაზების და მონოოქსიგენაზების საშუალებით ახორციელებენ. მცენარეული უჯრედები მონოოქსიგენაზების მემბრანებთან ბმულ და ხსნად ფორმებს შეიცავს, რაც მცენარეს ქსენობიოტიკის ტოქსიკური ზემოქმედებისაგან დაცვის გაცილებით ფართო საშუალებებს აძლევს (Гордезиани и др.,1999) რაც უკვე მიუთითებს მცენარის ერთგვარ საპასუხო რეაქციაზე დაბინძურებული გარემოს მიმართ.

შესაძლებელია, რომ ტოქსიკური ნივთიერებების ღრმა გარდაქმნის მრავალეტაპიან პროცესში არაპირდაპირ ერთვება პლასტიკური, ენერგეტიკული და აზოტოვანი ცვლის სხვა მრავალი ფერმენტიც, რომლებიც მცენარეულ უჯრედს დამატებითი ენერგიით, აუცილებელი ენდოგენური ნაერთებით და მეორადი მეტაბოლიტებით ამარაგებენ (Kvesitadze et al, 2001, Chrikishvili et al. 2006). თუმცა მცირეა მონაცემები, რომლებიც მუთითებენ მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების მონაწილეობაზე უჯრედში შეჭრილი ქსენობიოტიკის დეტოქსიკაციის პროცესში.

არსებობს მონაცემები რომლის თანახმად ბენზიდინის ზემოქმედების ქვეშ მყოფ მცენარეებშიც აღინიშნებოდა იმ ფერმენტების აქტივობის ზრდა, რომლებიც მონაწილეობენ ენერგიისა და აზოტის მეტაბოლიზმში (Chrikishvili et al., 2006). გლუტამინსინთეტაზას აქტივობის 50%-მდე ინჰიბირება და ამავდროულად გლუტამატ-დეჰიდროგენაზას სტიმულაცია ხდებოდა იონჯაში ფოსფინოტრიცინის ზემოქმედების დროს (Batanynen et al., 1986). ფოსფინოტრიცინი “ბასტას” აქტიური ინგრედიენტი და მასთან ერთად მრავალი სხვა ფართოდ გავრცელებული ჰერბიციდი (HHorlein 1999) წარმოიქმნება *Streptomyces sp*-თი და იდენტიფიცირებულია როგორც ტრიპეპტიდ–L-ფოსფინოტრიცინ-L-ალანილ-L-ალანინი, ფოსფინოტრიცინაცეტილტრანსფერაზა (ფატ). ამინომჟავებთან შედარებით ნახშირბადოვანი ჯაჭვის სიჭარბე მცენარეებში გს-ის მეტაბოლურ რეგულაციას აკონტროლებს (Oliveira 1999).

ნანახია გს-ს აქტივობის მატება *in vitro* ამ ფერმენტის ინკუბაციით სტაბილურ ლიგანდებთან (გლუტათიონი, DTT, გლუტამატი, Mg^{2+} და ატფ) (Rhodes 1979). სოიას

ფესვებში ფერმენტი ჟანგვით რეგულირდება. დაჟანგული გს არააქტიურია და უფრო მგრძნობიარეა ცილების დეგრადაციისადმი (Ortega 1999).

თ ა ვ ი II

ექსპერიმენტული ნაწილი

2.კვლევის ობიექტები და მეთოდები

2.1 კვლევის ობიექტები

კვლევის ძირითად ობიექტებს წარმოადგენდა: ერთწლიანი მცენარეები სოია (*Glycine max L)* – ჯიშები: ადრეულა-6, არმავირი, ქართული-7 და კოლხური, სიმინდი (*Zea mays L*) – ჯიში_აჯამეთის თეთრი. Gგარდა ამისა ცალკეული ცდებისათვის გამოყენებულ იქნა კახეთის რაიონის სოფლებიდან მოწოდებული პომიდვრის (*Lycopersicum esculentum* Mill) მცენარეები.

სოიას შემთხვევაში 30წთ-ის, ხოლო სიმინდის შემთხვევაში 24სთ-ის განმავლობაში წინასწარ ონკანის წყალში გაჯირჯვებულ 100-200 გ თესლს, ვათავსებდით კიუვეტებზე სველ ფილტრის ქაღალდზე და ვაღივებდით თერმოსტატში 25-28°C-ზე. 2-3 დღის შემდეგ ნაზარდები გადაგვქონდა სპეციალურ ნასვრეტებიან ფირფიტაზე და ვზრდიდით ცდის მიზნის შესაბამისად ჰიდროპონური მეთოდით ონკანის წყალზე ან სპეციალურ არეზე (Ohyama, Kumazawa, 1980). ექსპერიმენტს ვატარებდით როგორც ბუნებრივი განათების პირობებში გაზრდილ ისე ეთიოლირებული მცენარეების აღმონაცენებზე.

2.2 მცენარის კულტივირება მიკროელემენტების შემცველ არეზე

მიკროელემენტების გავლენის შესწავლის მიზნით სოიას და სიმინდის 7-დღიანი ნაზარდები გადაგვქონდა $MgCI_2$, $MnCI_2$ და $ZnCI_2$-ის 5mM კონცენტრაციის ხსნარებზე ბუნებრივი განათების პირობებში.

2.3 მცენარის კულტივირება ღია გრუნტში

მინდვრის ცდებს ვატარდებდით იმერეთის ეწერ ნიადაგზე აჯამეთის საცდელ სადგურში. თესლების დათესვის წინ ნიადაგის დამუშავება სასუქების შეტანა და ნათესის მოვლა ხდებოდა აგროწესების სრული დაცვით (ჭანიშვილი, 1973). მცენარეები იზრდებოდნენ როგორც ჩვეულებრივი _ საკვები ელემენტების გარეშე, ისე მოცემულ გარემო პირობებში ეფექტური აზოტისა და მაკროელემენტების აგროტექნიკურ დოზაზე (P120K60N90).

2.4 თესლების ინოკულაცია ბაქტერიული სუსპენზიით

აზოტის შეთვისების ეფექტურობის გამოვლენას ვატარებდით პარკოსანი მცენარის სოიას (*Glycine max*) ჯიშ "ადრეულა-6" აზოტფიქსაციის გაზრდილი უნარის მქონე შტამებით ინოკულირების პირობებში. კვლევაში გამოვიყენეთ ნ. კეცხოველის სახ. ბოტანიკის ინსტიტუტის კოლექციაში დაცული კოჟრის ბაქტერიები: *Bradyrhizobium japonicum* 2 და *Bradyrhizobium japonicum* 46 და ს. დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის აზოტის ფიქსაციისა და ასიმილაციის ფერმენტების ლაბორატორიის კოლექციის თავისუფლად მცხოვრები აზოტმაფიქსირებელი ბაქტერიის *Azospirillum brasilense G3* და აქტინომიცეტების ხვადასხვა კომბინაცია:

1. კონტროლო არაინოკულირებული
2. *Bradyrhizobium japonicum* 2
3. *Bradyrhizobium japonicum* 46
4. *Bradyrhizobium japonicum* 2+ *Streptomyces fradiae* 110
5. *Bradyrhizobium japonicum* 46+ *Geodermatophilus obscurus* 2'LD
6. *Bradyrhizobium japonicum* 2 + *Azospirillum brazilense* G3
7. *Bradyrhizobium japonicum* 46+ *Azospirillum brazilense* G3

დათესვის წინ სოიას თესლები სტერილდებოდა სულემის 0,1%_იან ხსნარში 15-20 წთ-ის განმავლობაში. ინოკულაცია წარმოებდა მონოკულტურებით და შერეული

კულტურების ბაქტერიული სუსპენზიით რომელიც შეიცავდა 10^6 უჯრედს 1მლ-ზე. ბაქტერიებით დამუშავებული თესლები ითესებოდა მცირე ზომის ნაკვეთებში. თითოეულ ნაკვეთში იყო 15 ორმო (10-10 მცენარე თითოეულ ორმოში). ნიადაგში შეტანილი იყო კალიუმის, ნატრიუმისა და ფოსფორის შემცველი სასუქები – შემდეგი კომბინაციით P60K60N30.

2.5. დაბალტემპერატურული სტრესის რეჟიმი

დაბალტემპერატურული სტრესისა და ფიტოპათოგენური სოკოთი ინფიცირების ცდები ტარდებოდა ს. დურმიშიძის სახ. ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის ბიოლოგიური ჟანგვის ლაბორატორიასთან ერთობლივად. სტრესების სიმულაცია ხდებოდა აღნიშნული ლაბორატორიის თანამშრომლების მიერ შემდეგნაირად: 25-28°C-ზე გაზრდილი სოიას ეთიოლირებული ნაზარდები განვითარების მე-5 და მე-6 დღეს 7-7 სთ-ით თავსდებოდა +5°C ტემპერატურის პირობებში ცივ კამერაში. შემდეგ მცენარის ნაზარდები ხელახლა თავსდებოდა 25-28°C ტემპერატურის პირობებში. მე-8 დღეს ხდებოდა მასალის ანალიზი. საკონტროლო მცენარეები მთელი ცდის განმავლობაში იმყოფებოდა 25-28°C ტემპერატურის პირობებში.

2.6 მცენარის დასნებოვნება ფიტოპათოგენური სოკოთი

პათოგენით ინფიცირების სტრესის სიმულაცია ხდებოდა შემდეგნაირად: 25-28°C-ზე გაზრდილი მცენარის 3-დღიანი ღივები გადაიტანებოდა სოკო ფუზარიუმის (კლასი – უსრული სოკოები; გვარი – *Fuzarium*) შემცველ ჩაპეკის ხსნარზე (KCI – 0,5 გ/ლ, $NaNO_3$ – 2 გ/ლ, $MgSO_4$ – 0,5 გ/ლ, KH_2PO_4 – 1 გ/ლ, $Fe_2(SO_4)_3$ –10 მგ/ლ). სოკოს საკვებ არედ გამოიყენებოდა ლუდ-აგარი, რომელიც სტერილდებოდა ავტოკლავში 1 ატმ. წნევაზე 30წთ, pH 6-7. საკონტროლო მცენარეები იზრდებოდა 25-28°C ტემპერატურაზე და 3-

დღიანი ღივები გადაიტანებოდა ჩაპეკის არეზე, რომელსაც მცირე რაოდენობით (10მგ-მდე) ემატებოდა სუფთა აგარი (ვარაზაშვილი, 2001).

მასალის ჰომოგენიზაციის შემდეგ ხდებოდა სუბუჯრედული ფრაქციების გამოყოფა დიფერენციალური ცენტრიფუგირების მეთოდოთ (Карузина, Арчаков.,1977). გამოყოფისა და სუსპენზირების არედ გამოიყენებოდა 1/15 M KH_2PO_4- Na_2HPO_4 ბუფერი, pH7.4.

2.7 მცენარის გაზრდა ქსენობიოტიკებზე

ორგანული პოლუტანტების გავლენის შესწავლის მიზნით სიმინდისა და სოიას 7-დღიანი ნაზარდები მოვათავსეთ 0,015mM, 0,15mM და 1,5mM კონცენტრაციის ნიტრობენზოლის წყალხსნარებზე 24, 48, 72 სთ-ის განმავლობაში. აღნიშნული ექსპოზიციების შემდეგ სიმინდისა და სოიას ნაზარდებს ვრეცხავდით, ვათავსებდით ისევ ონკანის წყალზე და ვაყოვნებდით 24 და 48 საათის განმავლობაში. ტრინიტროტოლუოლის შემთხვევაში 5-დღიან ნაზრდებს ვათავსებდით 0,1mM ხსნარზე (ონკანის წყალში). ექსპოზიციის დრო შეადგენდა 48 და 120სთ. საკონტროლო მცენარეები ორივე შემთხვევაში იზრდებოდნენ ონკანის წყალზე.

2.8 სუბუჯრედული ფრაქციების მიღება

სუბუჯრედული ორგანელების ფრაქციებს ვღებულობდით დიფერენციალური ცენტრიფუგირების მეთოდით. ფრაქციების მისაღებად ვიყენებდით ცენტრიფუგებს K-23 და K-24. წინასწარ გარეცხილ და გაცივებულ საანალიზო მცენარის ფესვებსა და ფოთლებს ვჭრიდით მცირე ზომის ნაწილებად ცივ აბაზანაზე და ჰომოგენიზაციას ვატარებდით ფაიფურის როდინებში ან დანიან ჰომოგენიზატორში, ერთგვაროვანი მასის მიღებამდე 50mM ტრის-HCl-ის ან ფოსფატის ბუფერის არეში pH 7,5 თანაფარდობით 1:3 ან 1:6 შემდეგ ვაცენტრიფუგირებდით 12000g, 30წთ-ის განმავლობაში. მიღებულ სუპერნატანტში ვსაზღვრავდით ფერმენტულ აქტივობებს და ცილის რაოდენობას.

2.9 ფერმენტული აქტივობის განსაზღვრა

2.9.1 გლუტამატდეჰიდროგენაზას ჟანგვითი დეზამინირების აქტივობის განსაზღვრა

ჟანგვითი დეზამინირების აქტივობის განსაზღვრისათვის სარეაქციო არე შეიცავდა 50mM ნატრიუმის გლუტამატს, 1,5 mM ნად ან ნადფ-ს და 0,1 მლ ფერმენტულ პრეპერატს 50 mM ტრის-HCl-ის ბუფერში (pH9,0-9,1), საბოლოო მოცულობა 3 მლ (Sadunishvili et al., 1993).

2.9. 2 გლუტამატდეჰიდროგენაზას აღდგენითი ამინირების აქტივობის განსაზღვრა

გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით სპექტროფოტომეტრული მეთოდით 340ნმ-ზე დაჟანგული ნად-H-ის რაოდენობის მიხედვით. ფერმენტის აქტივობის ერთეულად ვიღებდით ფერმენტის იმ რაოდენობას, რომელიც 20°C-ზე 1 წთ-ში გარდაქმნიდა ნად-H-ის 1 მიკრომოლს.

გლუტამატდეჰიდროგენაზას ამინირების აქტივობის განსაზღვრისათვის საჭირო სარეაქციო ნარევი შეიცავდა 0,05 M ტრის-HCl-ის ბუფერში (pH 8,01) 0,1 მლ საკვლევ მასალას, 10 მილიმოლ 2-ოქსოგლუტარატს, 0,13 მილიმოლ ნად-H-ს და 100 მილიმოლ ამონიუმის ქლორიდს საბოლოო მოცულობით 3 მლ. ვარიანტი ამონიუმის გარეშე გამოიყენებოდა როგორც საკონტროლო.

2.9.3 გლუტამატსინთეტაზას აქტივობის შესწავლა

გლუტამინსინთეტაზას აქტივობას ვსაზღვრავდით კოლორიმეტრული მეთოდით ტრანსფერაზული რეაქციის შედეგად წარმოქმნილი γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავას რაოდენობის მიხედვით. გლუტამინსინთეტაზის აქტივობის ერთეულად აღებულია ფერმენტის ის რაოდენობა, რომელიც აკატალიზებს 1 მიკრომოლი γ-გლუტამილ-ჰიდროქსამის მჟავას წარმოქმნას 1 წთ-ში 37°C-ზე (Sadunishvili et al., 1996).

2.10 ცილის რაოდენობის განსაზღვრა

ცილის რაოდენობის ვსაზღვრავდით კოლორიმეტრულად ლოურის (Lowry et. al.,1953) ან ბრედფორდის (Bradford ,1974) მეთოდებით. პირველ შემთხვევაში მეთოდი ემყარებოდა ფოლინის რეაქტივით გამოწვეული ფერადი რეაქციის ფოტომეტრულ გაზომვას. რეაქციის ინტენსივობა კი პროპორციულია ცილის რაოდენობისა. ხსნარის ექსტინქციას ვზომავდით 750ნმ-ზე; მეორე შემთხვევაში ბრილიანტის ლურჯი კუმასი G-250-ით შეფერილი ცილის ხსნარის შთანთქმა რეგისტრირდებოდა 595ნმ-ზე. ორივე მეთოდისათვის საკალიბრო მრუდის ასაგებად გამოიყენებოდა ხარის შრატის ალბუმინის ცნობილი კონცენრაციის ხსნარები. სპექტროფოტომეტრულ გაზომვებს ვაწარმოებდით ერთსხივიან СФ-26-ზე და ასევე JENWAY 650 UV/VIS-ზე.

2.11 ცილების იზოელექტროფოკუსირება

ცილების იზოელექტროფოკუსირებას ვატარებდით Phast Gel სისტემაში, 5%-იან პოლიაკრილამიდის გელში ამფოლინების თანაობისას pH-ის დიაპაზონში 3-9 და 4-6,5. კ. უილიამსის (Williams, K.W.) რეკომენდაციით

2.12 ელექტროფორეზი პოლიაკრილამიდის გრადიენტულ გელში

გლუტამატდეჰიდროგენაზას იზოფერმენტული სპექტრის გამოსავლენად ჩავატარეთ ფესვებისა და ფოთლების ჯამური ფერმენტული პრეპარატის ნატიური ელექტროფორეზი PhastSystem-ის 10-15%-იან აკრილამიდის გრადიენტულ გელში. ელექტროფორეზის ხანგრძლივობა 195 vA/სთ-ი (PhastSystem Separation Technique File, 1987) Pharmacia AB რეკომენდაციით.

გელებში ფერმენტების დეტექტირებას ვახდენდით შესაბამის სარეაქციო ხსნარში და სპეციალურ რეაგენტებთან ინკუბაციის შედეგად (Thurman et al., 1965)). სარეაქციო ნარევი გდჰ განსაზღვრისათვის შედგებოდა 5 მგ ნატრიუმის გლუტამატის, 1 მგ ნად$^+$-ის 0,03 მგ ფენაზინმეთოსულფატის და 0,5 მგ ნირტოტეტრაზოლის ლურჯისაგან 1 მლ 0,2M ფოსფატის ბუფერზე pH-7,5. სარეაქციო ნარევი მზადდებოდა უშუალოდ ცდის წინ. საკონტროლო ვარიანტის სარეაქციო ნარევი არ შეიცავდა ნატრიუმის გლუტამატს. გელების ინკუბაციას ნარევში ვახდენდით 37°C-ზე სიბნელეში 30-45 წთ-ის განმავლობაში. სარეაქციო არის pH ცდის ბოლოს – 8,0-8,5.

2.13 საკვლევი ობიექტების ფესვის უჯრედის ულტრასტრუქტურული ანალიზის მეთოდი

საკვლევი ობიექტების ულტრასტრუქტურული ორგანიზაციის შესასწავლად მასალა მზადდებოდა სტანდარტული მეთოდით (Уикли, 1975). ფესვის აპექსური ნაწილი, ხოლო ბაქტერიოზითა და კიბოთი დაავადებული მცენარის შემთხვევაში კი ფოთლის დაზიანებული და დაუზიანებელი ნაწილი იჭრებოდა და 1 მმ ნიმუშები ფიქსირდებოდა 2,5%-იან გლუტარალდეჰიდის ხსნარში. პოსტფიქსაცია ხდებოდა 1%-იანი OsO_4-ში. გაუწყლოებას ვახდენდით ეთილის სპირტის მზარდი კონცენტრაციის ხსნარებში. ძალიან თხელი ანათლები კეთდებოდა რეიჩერტის ულტრამიკროტომის – LKBIII (შვეცია) გამოყენებით. ნიმუშებს ვაყალიბებდით ეპონ-არალდიტის ნარევში (1.5:1.0 თანაფარდობით), ისხმებოდა ჟელატინირებულ კაფსულებში (Гайер,1974). ნიმუშების შეღებვა ხდებოდა 2%-იანი ურანილ-აცეტატით და ტყვიის ციტრატის ხსნარით.

2.14 მონაცემების სტატისტიკური დამუშავება

სამუშაოში მოყვანილი მონაცემები წარმოადგენს სამი პარალელური ცდის განსაზღვრისას მიღებულ გასაშუალოებულ შედეგებს. სარწმუნო ინტერვალის განსაზღვრას ვახდენდით სტიუდენტის t განაწილების ცხრილის მიხედვით, α=0,05 რისკის დონეზე (Фритц, Шенк, 1978).

თ ა ვ ი III

მიღებული შედეგები და მათი განხილვა

3.1. აზოტის მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების - გლუტამატდეჰიდროგენაზას და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები სოიასა და სიმინდის ახალგაზრდა აღმონაცენებში

ამონიუმის ასიმილაციის ძირითადი ფერმენტების – გლუტამატდეჰიდროგენაზას (გდჰ) და გლუტამინსინთეტაზას (გს) აქტივობები და ცილის რაოდენობა მარცვლოვან და პარკოსან მცენარეებში – სიმინდსა და სოიას აღმონაცენებში წარმოდგენილია ცხრილებში 1-4

სოიას შესწავლილი ჯიშებიდან ვეგეტატიურ ორგანოებში ცილის მაღალი შემცველობით გამოირჩევიან სოიას ჯიშები არმავირი და ქართული-7. აღსანიშნავია, რომ ცილის რაოდენობა დაახლოებით 7-ჯერ მეტია ფოთლებში, ფესვებთან შედარებით. ამასთან ცილის შემცველობა მცენარის ასაკის მატებასთან ერთად კლებულობს ცხრილი 1.

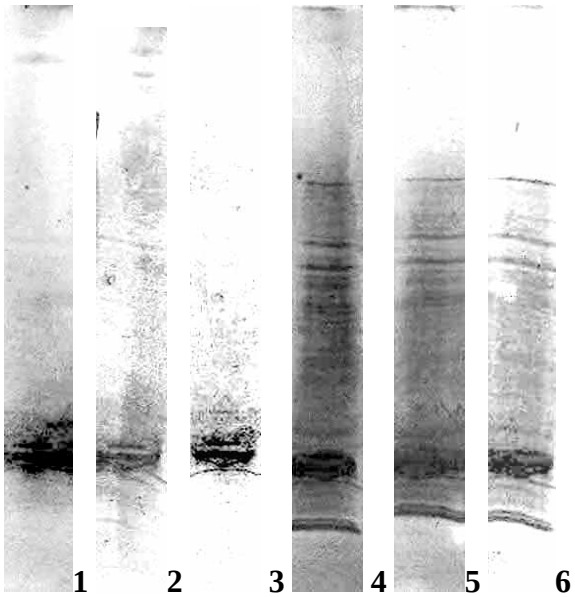
ცხრილი 1

ცილის რაოდენობა სოიას აღმონაცენების ფესვებსა და ფოთლებში

სოიას ჯიში	ორგანო	7დღიანი		14დღიანი		21დღიანი	
		ცილა					
		მგ/მლ	მგ/მლ ნედლი	მგ/მლ	მგ/მლ ნედლი	მგ/მლ	მგ/მლ ნედლი

			მასა		მასა		მასა
ქართული7	ფესვი	1.02	3.06	0.80	2.40	0.72	2.16
	ფოთოლი	7.17	21.51	3.33	9.99	3.04	9.12
არმავირი	ფესვი	1.11	3.33	0.77	2.31	0.69	2.07
	ფოთოლი	7.23	21.7	3.23	9.69	3.08	9.24
კოლხური	ფესვი	0.86	2.58	0.65	1.95	0.65	1.95
	ფოთოლი	6.89	20.67	3.41	10.23	3.00	9.00

ცილების იზოელექტროფოკუსირებით გამოვლინდა, რომ ფესვებთან შედარებით ფოთლის ცილების სპექტრი უფრო მრავალფეროვანია და ჯიშობრივი განსხვავება სპექტრში მცირეა. კერძოდ, სოიას ჯიშ კოლხურის ფოთლის ცილებში სხვა ჯიშებთან შედარებით უფრო მკვეთრადაა გამოხატული ცილის ფრაქცია, იზოელექტრული წერტილით 6,4 (სურ. 1)



სურათი 1. სოიას ფოთლებისა და ფესვების ცილების იზოელექტროფოკუსირება pH- ის დიაპაზონში 3-დან 9-მდე. ცილის რაოდენობა 1µl.

1-3 ფესვები: 1.ქართული7 2.არმავირი 3.კოლხური;

4-6 ფოთლები: 4. ქართული7 5. არმავირი 6.კოლხური.

როგორც ცხრილიდან 2 ჩანს, გლუტამინსინთეტაზას მაღალი აქტივობით გამოირჩევიან ჯიშები: არმავირი და კოლხური. გს აქტივობა ფესვში მეტია, ვიდრე ფოთოლში, ხვედრითი აქტივობის მიხედვით აღნიშნული თანაფარდობა კიდევ უფრო დიდია ფესვის სასარგებლოდ, რაც მასში ნაკლები რაოდენობით ცილის შემცველობითაა განპირობებული. აღსანიშნავია, რომ გს-ის ყველაზე დაბალი აქტივობით გამოირჩევა ჯიშის ქართული-7 ფესვები, ამასთან მასში აღინიშნება გდჰ-ს ისეთივე დონის აქტივობები, როგორიცაა არმავირსა და კოლხურში (ცხრილი 2).

ცხრილი 2

გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები სოიას აღმონაცენების ფესვებსა და ფოთლებში

სოიას ჯიში	ორგანო	7-დღიანი		14-დღიანი		21-დღიანი	
		გლუტამინსინთეტაზა					
		Aაქტივობა*	ხვედრითი აქტივობა**	Aაქტივობა	ხვედრითი აქტივობა	Aაქტივობა	ხვედრითი აქტივობა
ქართული7	ფესვი	1.72	1.68	3.17	3.96	0.50	0.69
	ფოთოლი	1.48	0.21	0.67	0.20	0.92	0.31
არმავირი	ფესვი	2.69	2.42	3.44	4.46	1.18	1.71
	ფოთოლი	2.19	0.30	0.89	0.28	1.24	0.40
კოლხური	ფესვი	2.67	3.10	2.84	4.37	0.79	1.17
	ფოთოლი	1.40	0.20	0.68	0.19	0.90	0.30

აქტივობა გამოსახულია მიკრომოლი γ-ghm/წთ

**ხვედრითი აქტივობა გამოსახულია მიკრომოლი γ-გჰმ*/წთ 1 მგ ცილაზე

გლუტამინსინთეტაზას აქტივობა ფოთოლთან შედარებით ფესვში უფრო მაღალია. ყურადღებას იპყრობს ის ფაქტი, რომ ასაკთან ერთად გს ხვედრითი აქტივობა ფოთლებში პრაქტიკულად არ იცვლება, მცირედი ზრდა მათში ცილის რაოდენობის შემცირებითაა განპირობებული. 14 დღიანი აღმონაცენების ფესვებში გს აქტივობა 2-ჯერ იზრდება, ამასთან 21 დღიანში მკვეთრად მცირდება და საწყის მნიშვნელობაზე ნაკლებია.

რაც შეეხება გდჰ-ს, მისი ხვედრითი აქტივობა ასაკთან ერთად მატულობს, გდჰ აქტივობის მატება განსაკუთრებით შესამჩნევია ფესვებში. რაც ასაბუთებს ადრე გაკეთებულ დასკვნებს, რომ ფესვებში გს ციკლის პარალელურად ამონიუმის ასიმილაციაში მონაწილეობს გდჰ-ც (Sadunishvili et al., 1996). არსებობს ლიტერატურული მონაცემები, რომლის მიხედვითაც მცენარის ასაკთან ერთად იზრდება გლუტამატდეჰიდროგენაზას როლი ამონიუმის ასიმილაციაში (Исмаилов, 1981).

ცხრილი 3

გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობები სოიას აღმონაცენების ფესვებსა და ფოთლებში

სოიას ჯიში	ორგანო	7-დღიანი		14-დღიანი		21-დღიანი	
		გლუტამატდეჰიდროგენაზა					
		აქტი ვობა*	ხვედრითი აქტივობა**	აქტი ვობა	ხვედრითი აქტივობა	აქტი ვობა	ხვედრითი აქტივობა
ქართული7	ფესვი	0.080	7.82	1.193	24.12	0.193	26.81
	ფოთოლი	0.064	0.89	0.041	1.23	0.069	2.27
არმავირი	ფესვი	0.074	6.67	0.145	18.83	0.190	17.54
	ფოთოლი	0.056	0.78	0.040	1.24	0.064	2.08
კოლხური	ფესვი	0.068	7.90	0.080	12.31	0.164	25.23
	ფოთოლი	0.040	0.58	0.048	1.41	0.061	2.02

*აქტივობა გამოსახულია მიკრომოლი ნად H/წთ

**ხვედრითი აქტივობა გამოსახულია მიკრომოლი ნად H/წთ1 მგ ცილაზე$\times 10^{-2}$

რაც შეეხება სიმინდის მცენარეს, ასაკის მატებასთან ერთად სოიას მსგავსად მიმდინარეობს თვისობრივი ცვლილებები, რაც აისახება შესწავლილი ფერმენტების აქტივობის ცვალებადობით და ცილის დაგროვებით ორივე ვეგეტატიურ ორგანოში.

როგორც ცხრილიდან 4 ჩანს, ცილის მაღალი შემცველობით გამოირჩევა 14-დღიანი კულტურები, აღსანიშნავია რომ ცილის რაოდენობა დაახლოებით 2-ჯერ მეტია ფოთლებში ფესვებთან შედარებით. ამასთან 21-დღიან აღმონაცენებში ცილის რაოდენობა კლებულობს, რაც სავარაუდოდ გამოწვეულია თესლში სამარაგო ნივთიერებების გამოლევით და წყალში დამატებითი საკვების დეფიციტით.

ცხრილი 4

გლუტამატდეჰიდროგენაზას და გლუტამინსინთეტაზას ხვედრითი აქტივობები სიმინდის აღმონაცენების ფესვებსა და ფოთლებში

მცენარე	ორგანო	Gგდჰ-ს ხვედრითი აქტივობა*		Gგს ხვედრითი აქტივობა**	ცილა მგ/მლ
		აღდგენითი ამინირება	ჟანგვითი დეზამინირება		
7-დღიანი	ფესვი	0.073	0.061	2.05	0.47
	ფოთოლი	0.069	0.008	0.94	1.37
14-დღიანი	ფესვი	0.056	0.012	2.62	0.98
	ფოთოლი	0.012	0.003	0.41	2.27
21-დღიანი	ფესვი	0.192	0.012	1.65	0.25
	ფოთოლი	0.005	0.006	1.07	0.52

*ხვედრითი აქტივობა გამოსახულია მიკრომოლი ნად H/წთ1 მგ ცილაზე×10^{-2}

**ხვედრითი აქტივობა გამოსახულია მიკრომოლი γ-გჰმ*/წთ 1 მგ ცილაზე

სიმინდშიც, ისევე როგორც სოიაში გლუტამინსინთეტაზას აქტივობა უფრო მაღალია ფესვებში, ვიდრე ფოთლებში. მცენარის ასაკის მატებასთან ერთად გს აქტივობა ფესვებში მცირდება და 21-დღიან ნიმუშში ნახევრდება, რაც სავარაუდოდ ცილის რაოდენობის შემცირებითაა გამოწვეული. ფოთლებში კი პირიქით ცილის რაოდენობის მატების პარალელურად მცირდება გს აქტივობა 14-დღიან ნაზრდებში.

რაც შეეხება გლუტამატდეჰიდროგენაზას, მისი აღდგენითი ამინირების აქტივობა იმატებს ორივე ვეგეტატიურ ორგანოში. მსგავსი ტენდენცია აღინიშნებოდა სოიას ნაზრდებშიც. სიმინდის 21-დღიანი მცენარის ფესვებში გდჰ აქტივობა 2,5-ჯერ აღემატება 7-დღიანისას. ჟანგვითი დეზამინირების პროცესი კი მცენარის ასაკის მატებასთან ერთად ფესვებში საგრძნობლად იკლებს.

სოიასა და სიმინდის ახალგაზრდა აღმონაცენების აზოტის მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტების შესწავლის საფუძველზე გამოვლინდა, რომ ასაკის მატების

პარალელურად ადგილი აქვს გს აქტივობის შემცირებას და გდჰ აქტივობის გაზრდას. რაც მათ ურთიერთკომპენსატორულ როლზე მიუთითებს ამონიუმის ასიმილაციაში.

3.2 ღია გრუნტში ამონიუმის ნიტრატის აგროტექნიკურ დოზაზე გაზრდილი სიმინდის მცენარეში ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტების გამოკვლევა

აზოტი ადამიანებსა და ცხოველებს ესჭიროებათ ცხოველური და მცენარეული წარმოშობის ცილების სახით, მცენარეებს კი აზოტმჟავას მარილების და ამონიუმის იონების სახით (Игнатов.,98). მცენარეებში გლუტამატდეჰიდროგენაზას სინთეზს ამონიუმის იონები არეგულირებენ, მისი გავლენით მცენარეთა ქსოვილებში საგრძნობლად იზრდება ფერმენტის აქტივობა (Шатилов,87). საერთოდ, ამონიუმის იონი ნივთიერებათა ცვლის მრავალი რეაქციის ძლიერ ეფექტორს წარმოადგენს. ამიტომ მცენარეულ უჯრედში მისი კონცენტრაცია პირველხარისხოვან როლს იძენს.

შესწავლილია ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტების აქტივობები ღია გრუნტში გაზრდილ სიმინდის ვეგეტატიურ ორგანოებში მინერალური სასუქის ფონზე.

კვლევის ობიექტად შეირჩა საქართველოში ფართოდ კულტივირებული სიმინდის ჯიში ”აჯამეთის თეთრი”. ცდები ჩატარდა იმერეთის ეწერ ნიადაგზე აჯამეთის საცდელ სადგურში. ცდის ვარიანტში მინერალური სასუქი შეჰქონდათ აგროტექნიკური დოზით (P120K60N90) მიღებულ ვადებში. საკონტროლო ვარიანტში არ ხდებოდა სასუქის შეტანა.

ცხრილი 5

გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები სიმინდის ღია გრუნტში გაზრდილი აღმონაცენების ფესვებსა და ფოთლებში

	№	ნიმუში	ცილა, მგ/მლ	გლუტამატდე-ჰიდროგენაზა	გლუტამინსინთეტაზა

				მკმოლი ნადH/თ	მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე	მკმოლი γ-ghm * /წთ	მკმოლი γ-γ-ghm /წთ 1 მგ ცილაზე
ფესვი	1	უსასუქო კონტროლი	0.47±0.23	0.066±0.003	0.14±0.007	0.611±0.030	1.3 ±0.065
	2	P120K60+N90	0.45±0.022	0.140±0.007	0.31±0.015	0.761±0.039	1.69±0.084
ფოთოლი	1	უსასუქო კონტროლი	2.30±0.114	0.138±0.007	0.06±0.003	4.840±0.240	2.1±0.104
	2	P120K60+N90	2.50±0.124	0.225±0.011	0.09±0.003	6.800±0.338	2.7±0.134

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

როგორც ცხრილიდან 5 ჩანს, სიმინდის ფესვებში მინერალური სასუქის გავლენით ადგილი აქვს გლუტამატდეჰიდროგენაზას ხვედრითი აქტივობის მნიშვნელოვან სტიმულირებას ფესვებში 121%-ით, ფოთლებში კი 50%-ით.

რაც შეეხება გლუტამინსინთეტაზას, მისი აქტივობა იმატებს როგორც ფესვებში, ისე ფოთლებში დაახლოებით 30%-ით. ლიტერატურული მონაცემებით (Givan., 1979) აზოტის მცირე კონცენტრაციებზე გს-ის აქტივობა სიმინდის ფოთლებში მნიშვნელოვნად იმატებს, ხოლო სიჭარბის დროს აქვს ადგილი გდჰ-ს სტიმულირებას, განსაკუთრებით ფესვებში.

სიმინდის ვეგეტატიურ ორგანოებში ფერმენტების ხვედრითი აქტივობების ზრდის პარალელურად ფესვებში ცილის რაოდენობა მცირდება 5%-ით, ხოლო მცენარის მწვანე მასაში იმატებს საკონტროლო ვარიანტთან შედარებით (10%-ით). ფოთოლში ცილის რაოდენობის მნიშვნელოვანი მატება აღირიცხებოდა სიმინდის მცენარის აზოტოვანი სასუქებით გამოკვების დროს რძისებრი სიმწიფის პერიოდში (პლეშკოვი., 1971).

ამრიგად, გამოვლენილია რომ სასუქის შეტანა ასტიმულირებს სიმინდის ვეგეტატიურ ორგანოებში ამონიუმის ასიმილაციის პროცესს და ზრდის გლუტამინსინთეტაზასა და განსაკუთრებით გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობებს, როგორც ფესვებში ისე ფოთლებში.

3.3 მიკროელემენტების გავლენა მარცვლოვანი და პარკოსანი მცენარეების ახალგაზრდა აღმონაცენების ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტებზე

ამონიუმის ჩართვა ამინომჟავებსა და ცილებში უპირატესად ხორციელდება გლუტამატსინთაზური ციკლის საშუალებით. ამ ციკლის პირველი წამყვანი ფერმენტი გლუტამინსინთეტაზა აკატალიზებს გლუტამინის მჟავის ამინირებას გლუტამინში. რეაქციაში მონაწილეობს ატფ და ორვალენტიანი მეტალის კათიონები, რომელთაგანაც ფერმენტი უპირატესობას მაგნიუმს ანიჭებს. მეტალებიდან გლუტამინსინთეტაზა მაქსიმალურ აქტივობას ამჟღავნებს მაგნიუმთან, ხოლო მანგანუმთან ფერმენტის აქტივობა გაცილებით ნაკლებია (Евстигнеева., 1988).

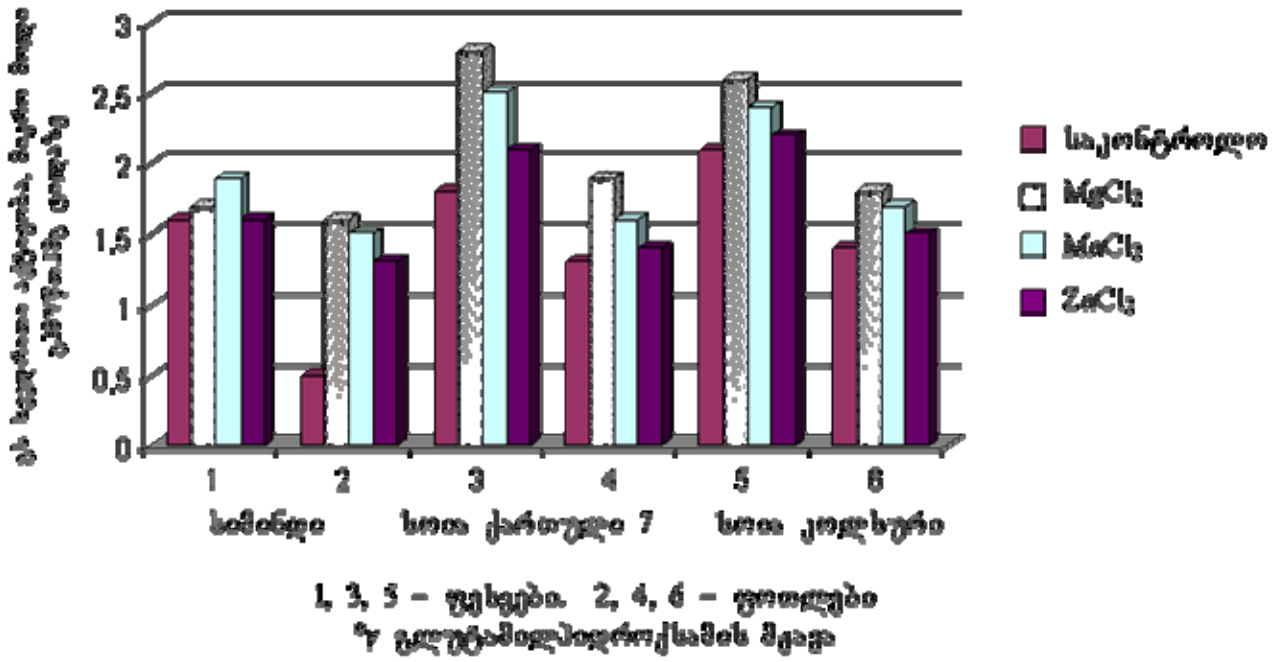
ამონიუმის ასიმილაციის მეორე უმთავრესი ფერმენტის გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობაზე მნიშვნელოვან გავლენას ახდენენ სხვადასხვა მცენარეებში მიკროელემენტების განსხვავებული კომბინაციები.

მცენარის სასიცოცხლო პირობების გაუმჯობესებისა და აზოტის ასიმილაციის ფერმენტების ინდუქციის უზრუნველყოფის მიზნით ჩვენს მიერ შესწავლილია სიმინდისა და სოიას ახალგაზრდა აღმონაცენების ფოთლებსა და ფესვებში ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტების გს და გდჰ აქტივობებზე შერჩეული მიკროელემენტების გავლენა. მცენარეებში Mg^{2+}, Mn^{2+} და Zn^{2+} იონების ზეგავლენით ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტების გს და გდჰ აქტივობების ცვლილება საკონტროლო ნიმუშებთან შედარებით წარმოდგენილია სურათებზე 2 და 3.

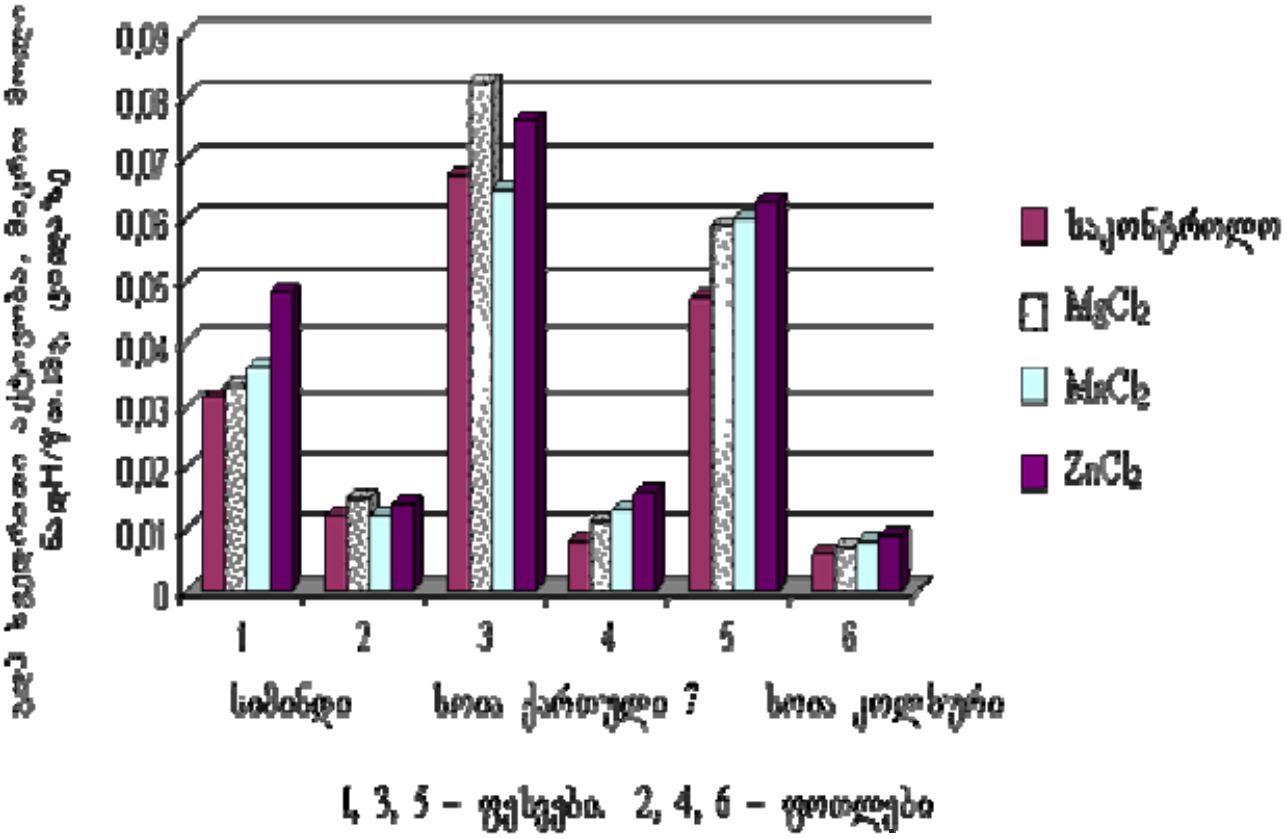
როგორც სურათიდან 2 ჩანს, $MgCI_2$ და $MnCI_2$-ის შემცველ ხსნარებზე გაზრდილი აღმონაცენების ფოთლებსა და ფესვებში გს უფრო აქტიურია ვიდრე $ZnCI_2$-ზე გაზრდილი მცენარეების შემთხვევაში. სოიას ჯიშის ქართული-7 ფესვებში Mg^{2+}-ის ზეგავლენით აღინიშნება გს აქტივობის მნიშვნელოვანი სტიმულირება საკონტროლოსთან შედარებით – 1,5-ჯერ.

სიმინდის ფესვებში გს აქტივობა მიკროელემენტების ფონზე ნაკლებად გაიზარდა სოიასთან შედარებით, მაგრამ მნიშვნელოვანი სტიმულირება აღინიშნება ფოთლებში –

მაგნიუმთან და მანგანუმთან ინკუბაციისას აქტივობა საკონტროლოსთან შედარებით თითქმის 3-ჯერ იმატებს.



სურათი 2. გლუტამინსინთეტაზას აქტივობა მიკროელემენტების 5mM კონცენტრაციის ხსნარებზე გაზრდილი სიმინდისა და სოიას 7_დღიან აღმონაცენებში



სურათი 3. გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობა მიკროელემენტების 5mM კონცენტრაციის ხსნარებზე გაზრდილი სიმინდისა და სოიას 7_დღიან აღმონაცენებში

როგორც სურათიდან 3 ჩანს, $MgCl_2$ და $MnCl_2$ არ იწვევს გდჰ აქტივობის შესამჩნევ ცვლილებებს საკონტროლოსთან შედარებით, ხოლო $ZnCl_2$ განაპირობებს გდჰ აქტივობის 100%-ით სტიმულირებას სოიას ჯიშის ქართული-7 ფოთლებში. რაც სავარაუდოდ ემთხვევა მოსაზრებას, რომ თუთია ასრულებს მნიშვნელოვან როლს ბარდის ფესვების გდჰ ნატიური კომფორმაციის შენარჩუნებაში (Гилмонов, 84). პირდაპირი მტკიცებულება იმის შესახებ რომ გდჰ მეტალშემცველი ფერმენტია არ არსებობს. ნაჩვენებია მხოლოდ თუთიის როგორც ასოცირებული მეტალის არსებობა სიმინდის ფესვებში (Поликарпочкина, 1975) და პომიდვრის ქლოროპლასტური გდჰ-ს შემადგენლობაში (Игошина, Косицин, 1975).

ჩვენს მიერ შესწავლილ სიმინდის ნაზრდებში გდჰ აქტივობა თითქმის თანაბრად იმატებს მიკროელემენტების ფონზე ორივე ვეგეტატიურ ორგანოში. აღსანიშნავია ფესვებში გდჰ აღდგენითი ამინირების რეაქციების სტიმულირება 150%-ით Zn^{2+}-ის არსებობისას. ლიტერატურაში ცნობილია რომ, თუთიასთან მიმართებაში სიმინდი სოიასთან შედარებით უფრო მეტად მგრძნობიარე მცენარეთა ჯგუფს მიეკუთვნება (Фатеев., 2001).

მიღებული შედეგები საშუალებას გვაძლევს დავასკვნათ, რომ ჩვენს მიერ შერჩეული ბიოლოგიურად აქტიური მიკროელემენტების $MgCl_2$, $MnCl_2$ და $ZnCl_2$-ის პროფილაქტიკური დოზების გამოყენებით პარკოსანი და მარცვლოვანი მცენარეების საკვებ არეში შესაძლებელია გაძლიერდეს ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტების სპექტრი, რაც მათ მისცემს აზოტის უფრო ინტენსიური შეთვისების საშუალებას, ხელს შეუწყობს მოსავლიანობის ამაღლებას და მედეგობის გაძლიერებას.

3.4 რიზობიუმისა და თავისუფლად მცხოვრები აზოტმაფიქსირებელი შტამების გავლენა ამონიუმის ასიმილაციასა და მოსავლიანობაზე

ცნობილია, რომ *Azospirilum*-ის გვარის თავისუფლად მცხოვრებ მიკროორგანიზმებს თავიანთ ძირითად ფუნქციასთან ერთად _ მოახდინონ მოლეკულური აზოტის ფიქსაცია, შეუძლიათ ზრდის ჰორმონების პროდუცირება და მათი საშუალებით მცენარის პროდუქტიულობაზე გავლენის მოხდენა (Tien et. al., 1979). ბოლო წლების გამოკვლელვებით დადგინდა, რომ რიზოსფეროში გავრცელებული მიკროორგანიზმებიდან აზოსპირილით ინოკულაცია ზრდის ხორბლის, სიმინდისა და სხვა მარცვლოვანი კულტურის მოსავლიანობას (Okon,1985), მაგრამ ნაკლებად არის გამოკვლეული მათი გავლენა პარკოსანი მცენარეების განვითარებაზე, პარკოსნების და რიზობიუმის სიმბიოზზე.

შევისწავლეთ სოიას აზოტის მეტაბოლიზმის ფერმენტებზე სიმბიოზური აზოტმაფიქსირებელი ბაქტერიების *Bradyrhizobium japonicum* 2 და *Bradyrhizobium*

japonicum 46, თავისუფლად მცხოვრები აზოტმაფიქსირებელი ბაქტერიის *Azospirilum brasilenseG* 3 და აქტინომიცეტების შერჩეული შტამების გავლენა სხვადასხვა კომბინაციაში ინოკულირებისას (იხ. მასალა და მეთოდები).

ყველა შესწავლილი ვარიანტის მცენარის ფოთლებში ცილის რაოდენობამ საკონტროლოსთან შედარებით მოიმატა. ამასთან, ცილის მაღალი შემცველობით (თითქმის გაორმაგებული) გამოირჩევა *Bradyrhizobium japonicum*-ის ორივე შტამით დამუშავებული მცენარეების ფოთლები. რაც შეეხება ფესვებს, საკონტროლოსთან შედარებით ცილა უმნიშვნელოდ იმატებს *Bradyrhizobium japonicum*–ის ორივე შტამით ინოკულირებულ ვარიანტებში. დანარჩენ, კომბინირებულ ნიმუშებში ცილის შემცველობა მცირდება 25%-ით.

ცხრილი 6

ცილის შემცველობა, გს და გდჰ აქტივობები სოიას ფესვებსა და ფოთლებში სხვადასხვა აზოტმაფიქსირებელი მიკროორგანიზმებით ინოკულაციის შემთხვევაში

	№	ნიმუში	ცილა, მგ/მლ	გლუტამინსინთეტაზა მკმოლი γ-ghm */წთ 1 მგ ცილაზე	გლუტამატდეჰიდროგენაზა, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე
ფესვები	1	საკონტროლო	1.17±0.058	0.86±0.043	0.74±0.037
	2	*Bradyrhizobium japonicum* 2	1.23±0.061	0.98±0.049	0.86±0.043
	3	*Bradyrhizobium japonicum* 46	1.20±0.060	0.96±0.048	0.80±0.040
	4	*Bradyrhizobium japonicum* 2+ *Streptomyces fradiae* 110	0.86±0.043	0.78±0.039	0.87±0.043
	5	*Bradyrhizobium japonicum* 46+ *Geodermatophilus obscurus* 2'LD	0.85±0.042	0.64±0.032	0.68±0.034
	6	*Bradyrhizobium japonicum* 2 + *Azospirillum brazilense* G3	0.85±0.042	1.28±0.064	0.98±0.049
	7	*Bradyrhizobium japonicum*46+ *Azospirillum brazilense* G3	0.86±0.043	0.61±0.030	0.57±0.028
ფოთლები	1	საკონტროლო	2.66±0.132	0.38±0.019	0.38±0.019
	2	*Bradyrhizobium japonicum* 2	5.54±0.252	0.20±0.010	0.16±0.008
	3	*Bradyrhizobium japonicum* 46	5.56±0.272	0.24±0.012	0.14±0.007
	4	*Bradyrhizobium japonicum* 2+ *Streptomyces fradiae* 110	4.28±0.213	0.29±0.014	0.23±0.011

	5	*Bradyrhizobium japonicum* 46+ *Geodermatophilus obscurus* 2'LD	2.90±0.144	0.32±0.016	0.21±0.010
	6	*Bradyrhizobium japonicum* 2 + *Azospirillum brazilense* G3	3.25±0.161	0.35±0.017	0.31±0.015
	7	*Bradyrhizobium japonicum* 46+ *Azospirillum brazilense* G3	4.05±0.201	0.26±0.013	0.20±0.010

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

როგორც აღმოჩნდა, ფესვებში გლუტამინსინთეტაზას ხვედრითი აქტივობა 3-ჯერ, მეტია ვიდრე ფოთლებში. ფესვებში გს ხვედრითი აქტივობა საკონტროლოსთან შედარებით *Bradyrhizobium japonicum*-ის ორივე შტამით ინოკულირებული მცენარეების შემთხვევაში გაიზარდა 12-14%-ით, ხოლო *Bradyrhizobium japonicum* 2 + *Azospirillum brazilense* G3 კომბინაციაში გს-ის სტიმულირება უფრო მნიშვნელოვანია (50%). ფოთლებში ცდის ყველა ვარიანტში გს ხვედრითი აქტივობა მეტნაკლებად შემცირდა.

როგორც მოსალოდნელი იყო გდჰ აქტივობები ფესვებში 3-4ჯერ მაღალია ფოთლებთან შედარებით, რაც ამონიუმის ასიმილაციაში მის უშუალო მონაწილეობაზე მიუთითებს. ფესვებში გდჰ მაღალი ხვედრითი აქტივობით გამოირჩევა *Bradyrhizobium japonicum* 2 + *Azospirillum brazilense* G3 კომბინაცია. ამ შემთხვევაში ფერმენტის აქტივობა საკონტროლოსთან შედარებით გაზრდილია 34%-ით, რაც სავარაუდოა აღნიშნულ ვარიანტში ცილის შემცირებით არის გამოწვეული. ისევე როგორც გს-ის შემთხვევაში, გდჰ აქტივობები მაღალია *B. japonicum*-ის ორივე შტამით ინოკულირებულ ვარიანტებში.

ფოთლებში გდჰ აქტივობა, ისე როგორც გს შემთხვევაში ყველგან შემცირებულია საკონტროლოსთან შედარებით.

სიმბიოზური აზოტმაფიქსირებელი ბაქტერიებისა და თავისუფლად მცხოვრები აზოტმაფიქსირებელი ბაქტერიის სხვადასხვა კომბინაცია გავლენას ახდენს სოიას აღმონაცენების ზრდასა და მცენარის ბიომასაზე (პატარაია, 1999). ლიტერატურაში ასევე ცნობილია, რომ აზოტმაფიქსირებელი მიკროორგანიზმების არსებობა მცენარეთა რიზოსფეროში განაპირობებს აზოტოვან ნივთიერებათა უკეთ შეთვისებას და ამასთან ზრდის მცენარის შეგუების უნარს ცვალებადი გარემო პირობებისადმი (Тихонович.,1998).

რიზობიუმისა და თავისუფლად მცხოვრები ბაქტერიების გამოყენებით საველე ცდებმა სოიას ნაზარდებზე გვიჩვენა, რომ *B. japonicum* 2 + *Azospirillum brazilense* G3 და *B. japonicum* 46+ *Azospirillum brazilense* G3 დადებით გავლენას ახდენს მოსავლის რაოდენობაზე.

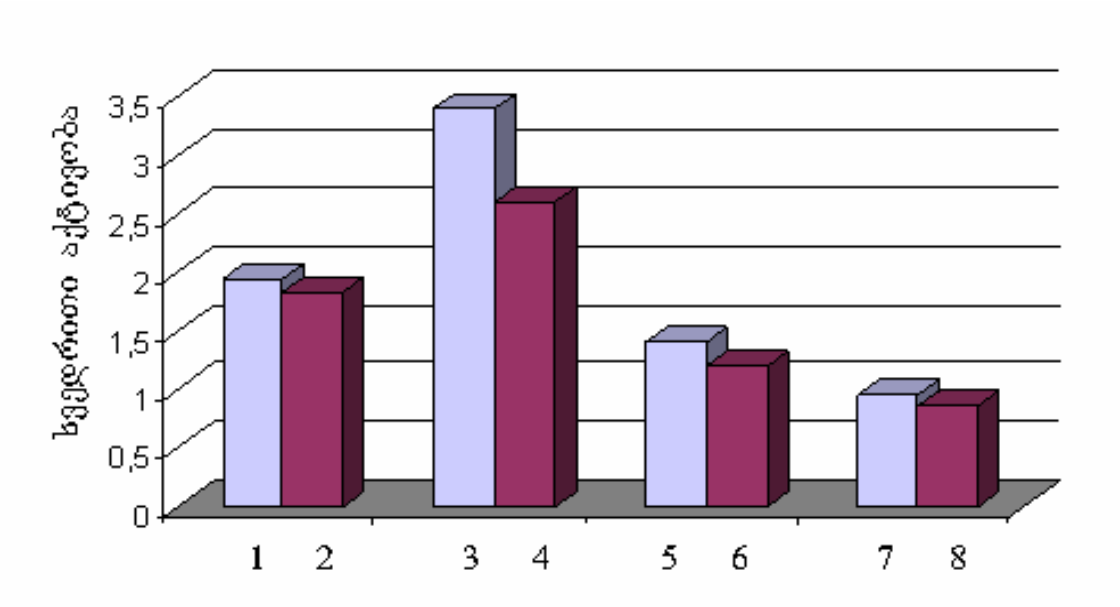
მიღებული შედეგებიდან შეიძლება დავასკვნათ, რომ მცენარეთა ვეგეტატიურ ორგანოებში ცილის შემცველობის, გს და გდჰ აქტივობების მიხედვით გამოირჩევა სოიას სიმბიოზური აზოტმაფიქსირებელი მიკროორგანიზმების შტამებით *B. japo-nicum-2* და *B. japonicum-46* ინოკულირებული ვარიანტები. ზოგ შემთხვევაში კარგ შედეგს იძლევა აგრეთვე *Bradyrhizobium japonicum* 2 + *Azospirillum brazilense* G3-ის კომბინაცია.

3.5 აზოტის მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების აქტივობის ცვლილება მცენარეებში დაბალტემპერატურული სტრესისა და სოკოთი ინფიცირების პირობებში

ცოცხალ უჯრედზე სტრესული ზემოქმედებისას ადგილი აქვს მთელი რიგი ფერმენტების ინდუქციას. მათ შორის ცვლილებებს განიცდიან მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტული სისტემები. ლიტერატურული მონაცემებით ტემპერატურული აკლიმატიზაციისას ცხოველური ორგანიზმებისათვის დამახასიათებელია რიგი ფერმენტების აქტივობების მაკომპენსირებელი ცვლილება (Хочачка, Сомеро, 1975). მათ რიცხვს მიეკუთვნება კრებსის ციკლისა და ცილის სინთეზში მონაწილე ფერმენტებიც. დაბალტემპერატურული სტრესის დროს ადგილი აქვს სიცივის შოკის ცილების სინთეზსაც. იქიდან გამომდინარე, რომ ამონიუმის ასიმილაცია მცენარისათვის უმნიშვნელოვანესი პროცესია და განაპირობებს ამინომჟავებისა და ცილების სინთეზს და ამდენად განსაზღვრავს მცენარის სასიციცხლო აქტივობას, დავინტერესდით გაგვერკვია ამ პროცესის მაკატალიზებელი ფერმენტების აქტივობების ცვლილებები სხვადასხვა სტრესულ პირობებში. აღნიშნული კვლევა საშუალებას მოგვცემს გაირკვეს ამ ფერმენტების სავარაუდო მონაწილეობა სტრესებისადმი საპასუხო რეაქციებში და მის მიმართ მცენარის ადაპტაციაში. ამ მიზნით შევისწავლეთ გლუტამატდეჰიდროგენაზასა

და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები სოიას ეთიოლირებულ ნაზარდებში, რომლებიც იმყოფებოდნენ ხელოვნურ სტრესულ მდგომარეობაში. კერძოდ დაბალტემპერატურული რეჟიმითა და ფიტოპათოგენური სოკო – *Fuzarium*-ით ინფიცირებით გამოწვეულ სტრესში. კვლევები მიმდინარეობდა ბიოლოგიური ჟანგვის ლაბორატორიასთან ერთად, რომლებიც თავის მხრივ აკვირდებოდნენ ჟანგვითი ფერმენტების აქტივობების ცვლილებებს.

გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები ისაზღვრებოდა სოიას სტრესულ პირობებში განვითარებული აღმონაცენების სხვადასხვა ფრაქციაში, კერძოდ ჰომოგენატში, 20000g სუპერნატანტში და მიკროსომულ ფრაქციაში. აღსანიშნავია, რომ გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსინთეტაზას მაქსიმალური აქტივობები გამოვლინდა ჰომოგენატში, სადაც სავარაუდოდ არის როგორც ხსნადი ისე ორგანელებთან დაკავშირებული ფორმები. კერძოდ გლუტამინსინთეტაზას ხსნადი და ქლოროპლასტური ფორმები (Садунишвили и др., 1985) და გლუტამატდეჰიდროგენაზას მიტოქონდრიული ფორმა (Sadunishvili et al., 1993). რაც შეეხება 20000g სუპერნატანტს, მასში გამოვლენილ იქნა საკვლევი ფერმენტების ქლოროპლასტური და მიტოქონდრიული ფორმები. მათი აქტივობები საშუალოდ 1,5-ჯერ ნაკლები იყო ჰომოგენატთან შედარებით. აღსანიშნავია, რომ მიკროსომულ ფრაქციაში არ გამოვლინდა გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები, რაც ასეც უნდა ყოფილიყო, ვინაიდან არ არსებობს მონაცემები მათი ამ ფრაქციაში ლოკალიზაციის შესახებ. სურათებზე 4 და 6 წარმოდგენილია გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობების ცვლილებები ჰომოგენატში, რადგან ის უფრო სრულად ასახავს სურათს, განსაკუთრებით გლუტამინსინთეტაზას შემთხვევაში.



სურათი 4. გლუტამატდეჰიდროგენაზას, გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები და ცილის რაოდენობა სოიას დაბალტემპერატურული სტრესის პირობებში გაზრდილი ეთიოლირებული ნაზარდების ფესვებში

1 - ცილა მგ/მლ კონტროლი;

2 - ცილა მგ/მლ მოყინვითი სტრესი;

3 - გდჰ აღდგენითი ამინირება, მკმოლი ნადH/წთ×100 1 მგ ცილაზე კონტროლი;

4 - გდჰ აღდგენითი ამინირება, მკმოლი ნადH/წთ ×100 1 მგ ცილაზე მოყინვითი სტრესი;

5 - გდჰ ჟანგვითი დეზამინირება, მკმოლი ნადH/წთ×100 1 მგ ცილაზე კონტროლი;

6 - გდჰ ჟანგვითი დეზამინირება,მკმოლი ნადH/წთ×100 1 მგ ცილაზე, მოყინვითი სტრესი;

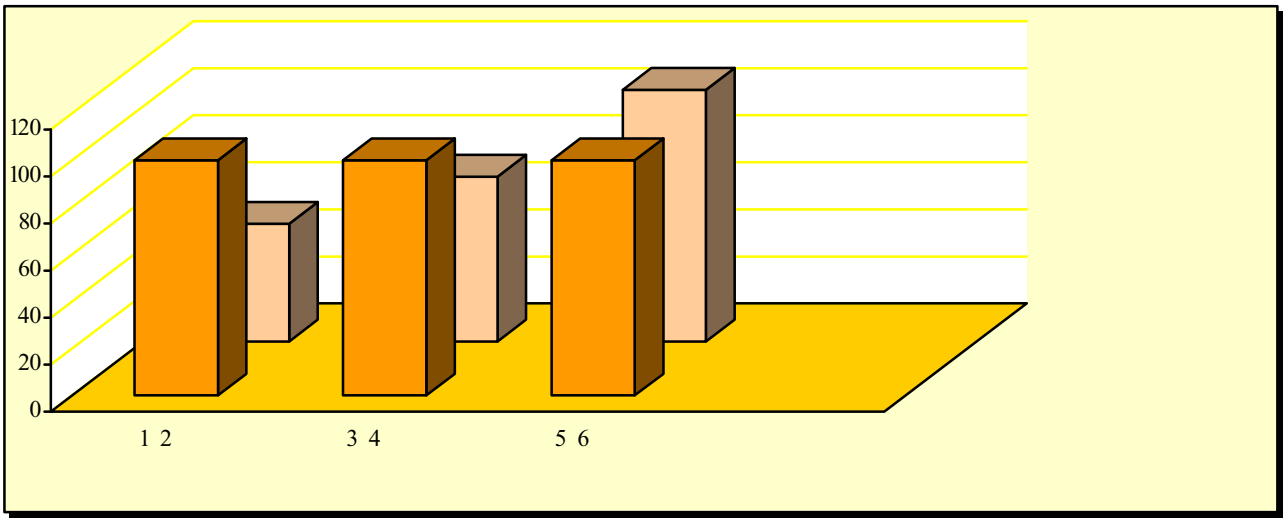
7 - გს, მკმოლი γ-ghm*/წთ 1 მგ ცილაზე, კონტროლი;

8 - გს, მკმოლი γ--ghm*/წთ 1 მგ ცილაზე, მოყინვითი სტრესი.

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

როგორც წარმოდგენილი სურათიდან ჩანს, დაბალტემპერატურული სტრესის შედეგად ადგილი ჰქონდა ყველა შესწავლილი ფერმენტის აქტივობის დათრგუნვას საკონტროლოსთან შედარებით. კერძოდ, ფესვების ჰომოგენატში, გლუტამინსინთეტაზას აქტივობა 10%-ით შემცირდა, გლუტამატდეჰიდროგენაზას კი 15%-ით ჟანგვითი დეზამინირების რეაქციაში და 25%-ით აღდგენითი ამინირების რეაქციაში. აღსანიშნავია,

რომ სოიას ფესვების სუპერნატანტში (სურათი 5), მხოლოდ გლუტამინსინთეტაზის აქტივობამ მოიმატა 7% -ით გლუტამატდეჰიდროგენაზის კი შემცირდა 30%-ით ჟანგვითი დეზამინირების რეაქციაში და 50%-ით აღდგენითი ამინირების რეაქციაში. ამდენად ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტების აქტივობები დაბალ ტემპერატურაზე დაითრგუნა. დაბალი დადებითი ტემპერატურის უარყოფითად მოქმედება აზოტის ცვლაზე აღნიშნულია სხვა მკვლევარების მიერაც (Guy S. et al., 1997; Воробьев, 1998).



სურათი 5. გლუტამატდეჰიდროგენაზას, გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები და ცილის რაოდენობა სოიას დაბალტემპერატურული სტრესის პირობებში გაზრდილი ეთიოლირებული ნაზარდების ფესვების სუპერნატანტში ;(%)

1- გდჰ აღდგენითი ამინირება, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე კონტროლი;

2 - გდჰ აღდგენითი ამინირება, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე მოყინვითი სტრესი;

3 - გდჰ ჟანგვითი დეზამინირება, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე კონტროლი;

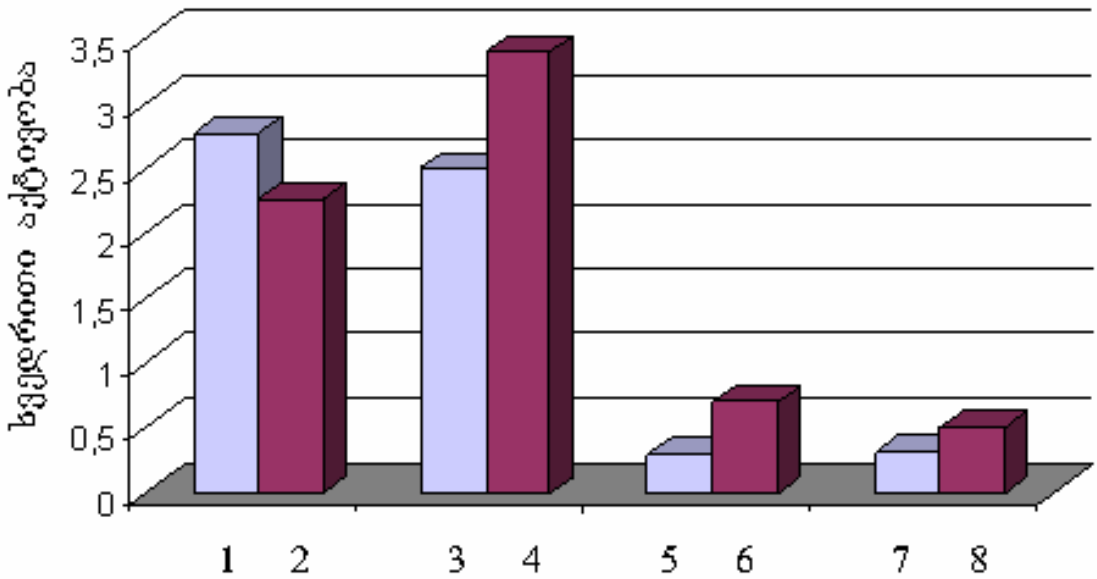
4 - გდჰ ჟანგვითი დეზამინირება,მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე, მოყინვითი სტრესი;

5 - გს, მკმოლი γ--ghm*/წთ 1 მგ ცილაზე, კონტროლი;

6 - გს, მკმოლი γ--ghm*/წთ 1 მგ ცილაზე, მოყინვითი სტრესი.

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

როგორც სურათიდან 5 ჩანს გს-ის აღნიშნული მცირე სტიმულირება სავარაუდოდ შესაძლებელია შეფასდეს როგორც დაბალტემპერატურული სტრესისადმი მცენარის საპასუხო რეაქცია.



სურათი 6. გლუტამატდეჰიდროგენაზას, გლუტამინსინთეტაზას აქტივობები და ცილის რაოდენობა სოიას სოკოთი ინფიცირებული ეთიოლირებული ნაზარდების ფესვებში

1 - ცილა მგ/მლ, კონტროლი;

2 - ცილა მგ/მლ, ინფიცირებული;

3 - გდჰ აღდგენითი ამინირება, მკმოლი ნადH/წთ ×100 1 მგ ცილაზე, კონტროლი;

4 - გდჰ აღდგენითი ამინირება, მკმოლი ნადH/წთ ×100 1 მგ ცილაზე, ინფიცირებული;

5 - გდჰ ჟანგვითი დეზამინირება, მკმოლი ნადH/წთ ×100 1 მგ ცილაზე, კონტროლი;

6 - გდჰ ჟანგვითი დეზამინირება, მკმოლი ნადH/წთ ×100 1 მგ ცილაზე, ინფიცირებული;

7 - გს, მკმოლი γ--ghm*/წთ 1 მგ ცილაზე, კონტროლი;

8 - გს, მკმოლი γ--ghm*/წთ 1 მგ ცილაზე, ინფიცირებული.

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

საპირისპირო შედეგები მივიღეთ სოკოთი ინფიცირებულ მცენარეებში. კერძოდ ამ შემთხვევაში აღინიშნებოდა შესწავლილი ფერმენტების მნიშვნელოვანი სტიმულირება. გლუტამინსინთეტაზას აქტივობა იმატებს 56%-ით, ხოლო გლუტამატდეჰიდროგენაზას აღდგენითი ამინირებისა და ჟანგვითი დეზამინირების რეაქციებში შეინიშნება შესაბამისად 36%-იანი და დაახლოებით 50%-იანი მატება.

მიღებული შედეგების საფუძველზე შეგვიძლია ვივარაუდოთ, რომ აზოტის ცვლის ფერმენტები არ უნდა მონაწილეობდნენ დაბალტემპერატურული სტრესისადმი ადაპტაციაში. შესწავლილი ფერმენტების მნიშვნელოვანი სტიმულირება პათოგენური სოკოთი ინფიცირებულ მცენარეებში კი უნდა მიუთითებდეს ამ ფერმენტების მონაწილეობაზე აღნიშნული პათოლოგიის მიმართ მცენარის ადაპტაციაში.

3.6 აზოტის მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების აქტივობები შავი ბაქტერიული სილაქავითა და ბაქტერიული კიბოთი დაავადებულ მცენარეებში

მცენარეებში ბაქტერიული ინფექციის გავრცელებისას ორგანიზმის ბრძოლისუნარიანობის ხარისხი განისაზღვრება პარაზიტის მიერ ინდუცირებული მეტაბილიტების გაუვნებელყოფით. ფიტოპათოგენური ბაქტერიებით დაზიანებული პომიდვრის ქსოვილებში ტოქსიური მეტაბოლიტების გაუვნებელყოფისას უმეტეს შემთხვევაში იმატებს ჟანგვა-აღდგენითი ფერმენტების აქტივობები. ბიოლოგიური ჟანგვის პროცესში კი სასურველი პოტენციალის დამყარება დეჰიდროგენაზებს აკისრიათ. დაზიანებული მცენარის დაავადების აღმძვრელის ტოქსიკურ მეტაბოლიტებზე გავლენას ახდენენ ასევე აზოტის ცვლის ძირითადი ფერმენტებიც, ცნობილია, რომ მათი აქტივობის მატება დაკავშირებულია მცენარის დაცვით მექანიზმებში მათ უშუალო მონაწილეობასთან (Матышевская., 1975).

შესწავლილია აზოტის მეტაბოლიზმის ფერმენტების აქტივობები შავი ბაქტერიული სილაქავით (გამომწვევი – *Xanthomonas vesicatoria*) და ბაქტერიული კიბოთი

(გამომწვევი – *Corynebacterium michiganense*) დაავადებული პომიდვრის მცენარეში. კვლევები ტარდებოდა მცენარის განვითარების ყვავილობისა და მწვანე ნაყოფის ფაზაში. ანალიზდებოდა დაავადებული მცენარის როგორც დაზიანებული ისე დაუზიანებელი უბნები. ნიმუშები შეგროვებულ იქნა კახეთის რაიონის სოფლებში.

როგორც ცხრილიდან 7 ჩანს, მცენარის განვითარების ყვავილობის ფაზაში შავი ბაქტერიული სილაქავით დაავადებულ პომიდვრის ფოთლების როგორც დაზიანებულ ისე დაუზიანებელ უბნებში შეიმჩნევა გლუტამატდეჰიდროგენაზას ჟანგვითი დეზამინირების რეაქციების მნიშვნელოვანი 4-5 ჯერადი სტიმულირება საკონტროლო – საღ მცენარესთან შედარებით.გდჰ-ს აქტივობის მატება ნაჩვენებია ასევე ლობიოს *P. Phaseolicola*-თი დასნებოვნებულ ფოთლებში (Rudolf, Stehman 1968).

იმავდროულად შეინიშნება გლუტამინსინთეტაზას აქტივობის მატება ფოთლების როგორც დაზიანებულ ისე დაუზიანებელ უბნებში შესაბამისად 170 და 228%-ით. დაავადებული მცენარის ფოთლების დაზიანებულ უბანში აღინიშნება აგრეთვე ცილის რაოდენობის მომატება (24%).

ცხრილი 7

გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობების ცვლილებები შავი ბაქტერიული სილაქავით დაავადებული პომიდვრის ფოთლებში.

მცენარის განვითარების ყვავილობის ფაზა

~~დაავადებული ფოთლის~~		~~0.110±0.005~~		
დაუზიანებელი ნაწილი	0.064±0.003		1.83±0.091	3.6±0.179

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

მცენარის განვითარების - მწვანე ნაყოფის ფაზაში გლუტამატდეჰიდროგენაზას და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობების ცვლილებები უფრო მკვეთრია ბაქტერიული კიბოთი დაავადების შემთხვევაში. კერძოდ გამოვლინდა გლუტამატდეჰიდროგენაზას ჟანგვითი დეზამინირების და აღდგენითი ამინირების რეაქციების მნიშვნელოვანი სტიმულირება დაავადებული მცენარის ფოთლის როგორც დაზიანებულ ისე დაუზიანებელ უბნებში (ცხრილი 8).

ცხრილი 8

გლუტამატდეჰიდროგენაზას და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობების ცვლილებები შავი ბაქტერიული სილაქავითა და ბაქტერიული კიბოთი დაავადებული პომიდვრის ფოთლებში. მცენარის განვითარების მწვანე ნაყოფის ფაზა

პომიდვრის ფოთლები	გლუტამატდე-ჰიდროგენაზას აქტივობა (ჟანგვითი დეზამინირება), მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე	გლუტამატდე-ჰიდროგენაზას აქტივობა (აღდგენითი ამინირება), მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე	გლუტამინსი ნ-თეტაზა, მკმოლი γ-ghm*/წთ 1 მგ ცილაზე	ცილა, მგ/მლ
კონტროლი	0.04±0.002	0.05±0.002	2.2±0.109	1.92±0.095
შავი ბაქტერიული სილაქავით დაავადებული ფოთლის დაზიანებული ნაწილი	0.08±0.005	0.05±0.002	3.4±0.169	1.38±0.069
შავი ბაქტერიული სილაქავით დაავადებული ფოთლის დაუზიანებული ნაწილი	0.11±0.005	0.07±0.003	3.2±0.159	1.13±0.056
ბაქტერიული კიბოთი დაავადებული მცენარე	0.06±0.003	0.12±0.006	4.2±0.209	1.13±0.056

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

ამრიგად, პათოგენული ბაქტერიებით დაავადებულ პომიდვრის ფოთლებში ადგილი აქვს ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტების და განსაკუთრებით გლუტამატდეჰიდროგენაზას გააქტიურებას, რაც უფრო მკვეთრადაა გამოხატული დაავადებული მცენარის ფოთლის დაუზიანებელ უბანში. აზოტის მეტაბოლიზმის ფერმენტების აქტივობის მომატება პომიდვრის ფოთლებში მიუთითებს მცენარის დაავადების მიმართ ადაპტაციაში მათ უშუალო მონაწილეობაზე.

3.7 ნიტრობენზოლის გავლენა სიმინდისა და სოიას ფესვებში ამონიუმის ასიმილაციის ფერმენტებსა და უჯრედის ულტრასტრუქტურაზე

მცენარეებს თავის უმნიშვნელოვანეს ფუნქციასთან ერთად მოახდინონ ფოტოსინთეზი და მინერალური აზოტის ასიმილაცია, ასევე შესწევთ უნარი პლანეტაზე ეკოლოგიური ბალანსი შეინარჩუნონ _ შთანთქონ და გააუვნებელყონ გარემოდან მოხვედრილი უცხო ნაერთები. უტილიზაციის ერთერთი მნიშვნელოვანი გზა უჯრედში შეჭრილი ქსენობიოტიკების ღრმა ჟანგვითი გარდაქმნაა, რაც არომატული ნახშირწყალბადების შემთხვევაში ბირთვის გახლეჩით და უჯრედისათვის ტიპიური მეტაბოლიტების წარმოქმნით მიმდინარეობს (Korte et. al., 2000). არენების მრავალი წარმოებულის ბიოტრანსფორმაციის პროცესში მნიშვნელოვანი ეტაპი არომატული ბირთვის ჰიდროქსილირებაა. მცენარეში ასე გარდაიქმნება მაღალტოქსიკური ნაერთი ნიტრობენზოლი, რომელიც გამოირჩევა სტაბილურობით და არ განიცდის თვითდაჟანგვას (Mithaishvili et al.,2005). დეტოქსიკაციის პროცესში მონაწილეობენ ფერმენტები, რომლებიც აკატალიზებენ კონიუგაციისა და ჟანგვით რეაქციებს (Kvesitadze et al,.2005, 2006). ნაჩვენებია ასევე მათი ინდუქცია ქსენობიოტიკების გავლენით (Khatisashvili et al., 1997). რაც უკვე მიუთითებს მცენარის ერთგვარ საპასუხო რეაქციაზე დაბინძურებული გარემოს მიმართ.

შესაძლებელია, რომ ტოქსიკური ნივთიერებების ღრმა გარდაქმნის მრავალეტაპიან პროცესში არაპირდაპირ ერთვება პლასტიკური, ენერგეტიკული და აზოტოვანი ცვლის სხვა მრავალი ფერმენტიც, რომლებიც მცენარეულ უჯრედს დამატებითი ენერგიით, აუცილებელი ენდოგენური ნაერთებით და მეორადი მეტაბოლიტებით ამარაგებენ (Kvesitadze et al., 2001, Chrikishvili et al., 2006). თუმცა მცირეა მონაცემები, რომლებიც მუთითებენ მეტაბოლიზმის ძირითადი ფერმენტების მონაწილეობაზე უჯრედში შეჭრილი ქსენობიოტიკის დეტოქსიკაციის პროცესში.

შესწავლილია არომატული ნიტრონაერთის – ნიტრობენზოლის სხვადასხვა კონცენტრაციისა და ექსპოზიციის დროის გავლენა სოიასა და სიმინდის მცენერეების აზოტის ცვლაში მონაწილე ძირითადი ფერმენტების _ გლუტამატდეჰიდროგენაზას და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობებზე და ცილის დაგროვებაზე. ცხრილში 9 მოცემულია ნიტრობენზოლის კონცენტრაციების, ექსპოზიციის დროისა და შესწავლილი ფერმენტების აქტივობებს შორის არსებული თანაფარდოფითი დამოკიდებულება. კერძოდ, სიმინდის შემთხვევაში, ერთსაათიანი ექსპოზიციის დროს, ნიტრობენზოლის დაბალი კონცენტრაციის _ 0,015mM გამოყენებამ, პრაქტიკულად არ გამოიწვია გავლენა არც გლუტამატდეჰიდროგენაზას და არც გლუტამინსინთეტაზას აქტივობებზე. გადახრა ნორმიდან არ იქნა აღნიშნული არც მცენარის უჯრედის ულტრასტრუქტურულ ორგანიზაციაში ნიტრობენზოლის ამ კონცენტრაციის ზემოქმედებისას. თუმცა ნიტრობენზოლის უფრო მაღალი კონცენტრაციის _ 0,15mM გამოყენების დროს აღინიშნებოდა გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობის 25_50% სტიმულირება, რომელიც აღწევს მაქსიმუმს 24 საათიანი ექსპოზიციისას. ნიტრობენზოლის ყველაზე მაღალმა კონცენტრაციამ _ 1,5mM, გამოიწვია ფერმენტული აქტივობის ინჰიბირება, რომლის მაქსიმუმი აღინიშნებოდა 72 საათიანი ექსპოზიციის დროს. როგორც აღმოჩნდა, გლუტამინტსინთეტაზა ნაკლებად მგრძნობიარეა ნიტრობენზოლის მიმართ. გამონაკლისს წარმოადგენს მაღალი კონცენტრაციის გამოყენება _ 1,5mM, როდესაც აღინიშნა გლუტამინტსინთეტაზას აქტივობის 60%-იანი ინჰიბირება, უფრო მაღალი ვიდრე გლუტამატდეჰიდროგენაზას შემთხვევაში ხანგრძლივი ექსპოზიციის დროს.

ნიტრობენზოლის უფრო დაბალი კონცენტრაციების შემთხვევაში აღინიშნებოდა ამ ფერმენტის უმნიშვნელო ინჰიბირება.

ცხრილი 9

ცილის რაოდენობა, გლუტამინსინთეტაზასა და გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობები სიმინდის ფესვებში ნიტრობენზოლის ზემოქმედების შედეგად

ინკუბაციის დრო, სთ	ნიტრობენზოლის კონცენტრაცია mM	ცილა, მგ/მლ	გლუტამინსინთეტაზა, მკმოლი γ-გჰმ */წთ 1 მგ ცილაზე	გლუტამატდეჰიდროგენაზა, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე
1	0	0.20±0.010	10.0±0.497	0.060±0.003
	0.015	0.19±0.010	10.0±0.497	0.068±0.003
	0.15	0.24±0.010	9.2±0.457	0.090±0.004
	1.5	0.18±0.009	8.6±0.427	0.050±0.002
24	0	0.20±0.010	9.6±0.477	0.048±0.002
	0.015	0.20±0.010	7.8±0.388	0.030±0.001
	0.15	0.25±0.012	7.3±0.363	0.068±0.003
	1.5	0.18±0.009	4.6±0.228	0.032±0.002
72	0	0.19±0.009	4.1±0.204	0.032±0.002
	0.015	0.18±0.009	3.5±0.174	0.034±0.002
	0.15	0.20±0.010	2.7±0.134	0.040±0.002
	1.5	0.14±0.007	1.6±0.074	0.019±0.001
72სთ+24სთ ნიტრობენზოლისაგანთავისუფალ არეზე	0	0.20±0.010	4.7±0.233	0.040±0.002
	0.015	0.20±0.010	4.1±0.204	0.040±0.002
	0.15	0.21±0.010	3.7±0.184	0.044±0.002
	1.5	0.16±0.008	2.2±0.109	0.028±0.001
72სთ+48სთ ნიტრობენზოლისაგან თავისუფალ არეზე	0	0.20±0.010	2.4±0.119	0.040±0.002
	0.015	0.18±0.009	2.2±0.109	0.040±0.002
	0.15	0.18±0.009	1.9±0.094	0.038±0.002
	1.5	0.16±0.008	1.2±0.060	0.028±0.001

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

ნიტრობენზოლის ზემოქმედების შედეგად, აღინიშნებოდა ცილის რაოდენობის უმნიშვნელო ზრდა მცენარის ფესვებში. ცილის სინთეზის ზრდაზე მიუთითებს ასევე რიბოსომების რაოდენობის ზრდა სიმინდის ფესვის კორტიკალურ უჯრედებში ნიტრობენზოლის 0,15 mM ზემოქმედების შედეგად (სურ 6-8).

მსგავსი შედეგი მივიღეთ სოიას შემთხვევაში, თუმცა ამ მცენარეში ნაკლებად იქნა გამოხატული ნიტრობენზოლის ინდუქციური ზემოქმედება გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობაზე (ცხრილი 10). სავარაუდოდ სოია უფრო მდგრადია ნიტრობენზოლის ზემოქმედების მიმართ, ვიდრე სიმინდი.

აღნიშნული შედეგები საფუძველს გვაძლევს ვივარაუდოთ, რომ აზოტის მეტაბოლიზმში მონაწილე ფერმენტები ამჟღავნებენ საპასუხო რეაქციას ნიტრობენზოლის მიმართ, რაც დამოკიდებულია ქსენობიოტიკის კონცენტრაციასა და ექსპოზიციის ხანგრძლივობაზე. დაბალი კონცენტრაცია _ 0,015 mM არ იწვევს მნიშვნელოვან ცვლილებებს, უფრო მაღალმა კონცენტრაციამ – 0,15mM გამოავლინა გლუტამატდეჰიდროგენაზული აქტივობის ინდუქცია. ყველაზე მაღალმა – 1,5mM კონცენტრაციამ კი გამოიწვია ფერმენტის აქტივობის ინჰიბირება. ეს შედეგები მიუთითებენ გლუტამატდეჰიდროგენაზას არაპირდაპირ მონაწილეობაზე დეტოქსიკაციის პროცესში. ამინირების აქტივობის სტიმულირება შეიძლება იქნას დაკავშირებული ცილის გაძლიერებულ სინთეზთან, რაც ხშირად ხდება ტოქსიკური სტრესის დროს, რომელიც საჭიროა ჟანგვითი ფერმენტების გაძლიერებული სინთეზისათვის, აგრეთვე სუბსტრატისა და ფერმენტის კონიუგაციისათვის (Zaalishvili et al., 2000, Kvesitadze et al., 2006).

ცხრილი 10

ცილის რაოდენობა, გლუტამინსინთეტაზასა და გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობა სოიას ფესვებში ნიტრობენზოლის ზემოქმედების შედეგად

ინკუბაციის დრო, სთ	ნიტრობენზოლის კონცენტრაცია, mM	ცილა, მგ/მლ	გლუტამინსინთეტაზა, მკმოლი γ-გჰმ */წთ 1 მგ ცილაზე	გლუტამატდეჰიდროგენაზა, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე
1	0	0.66±0.032	12.6±0.626	0.09±0.004
	0.015	0.70±0.035	12.7±0.626	0.10±0.005
	0.15	0.72±0.014	10.8±0.537	0.11±0.005
	1.5	0.58±0.029	5.8±0.288	0.08±0.004
24	0	0.44±0.022	8.3±0.412	0.07±0.003
	0.015	0.44±0.022	7.6±0.378	0.09±0.004
	0.15	0.46±0.023	7.2±0.358	0.09±0.004
	1.5	0.40±0.020	3.2±0.159	0.06±0.003
72	0	0.34±0.017	6.4±0.318	0.07±0.003
	0.015	0.34±0.017	5.8±0.288	0.07±0.003
	0.15	0.36±0.018	4.6±0.229	0.08±0.004
	1.5	0.28±0.014	2.8±0.139	0.04±0.002
72სთ+24სთ ნიტრობენზოლისაგან თავისუფალ არეზე	0	0.28±0.014	4.8±0.238	0.06±0.003
	0.015	0.26±0.013	4.8±0.238	0.06±0.003
	0.15	0.26±0.013	4.6±0.229	0.07±0.003
	1.5	0.18±0.009	2.8±0.139	0.04±0.002
72სთ+48სთ ნიტრობენზოლისაგან თავისუფალ არეზე	0	0.20±0.010	3.2±0.159	0.07±0.003
	0.015	0.20±0.010	3.0±0.149	0.07±0.003
	0.15	0.21±0.010	3.4±0.169	0.07±0.003
	1.5	0.18±0.009	1.7±0.084	0.05±0.002

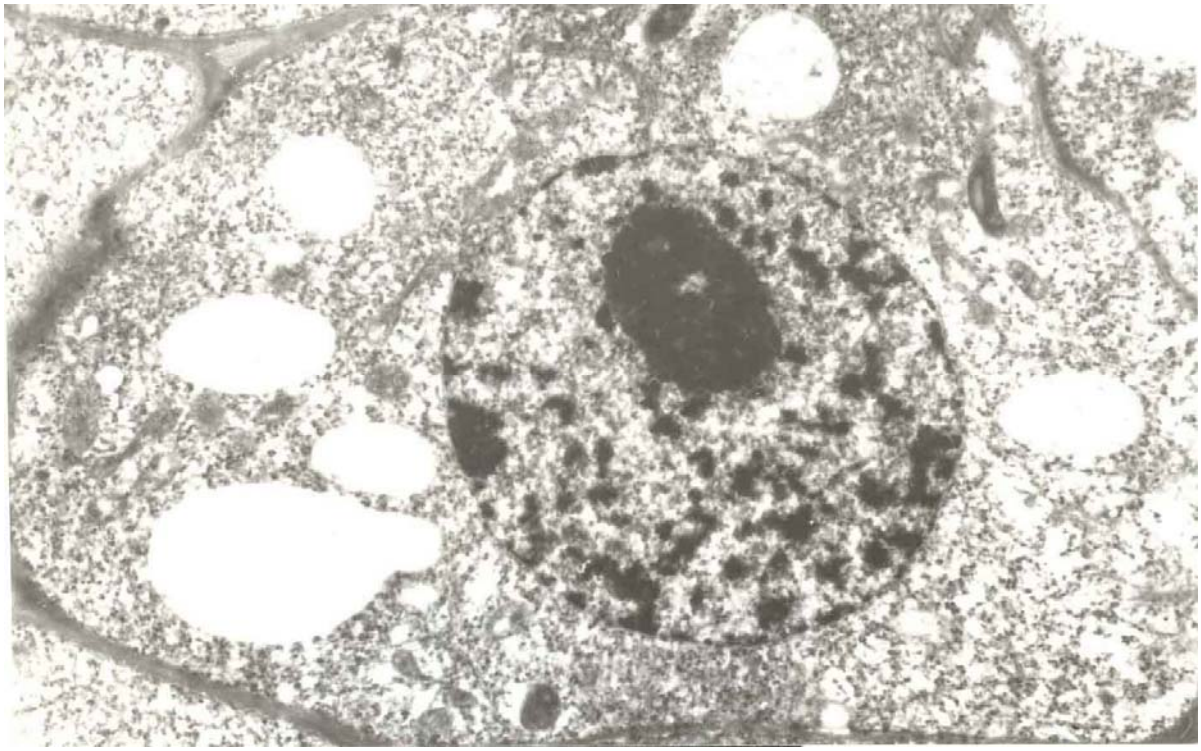
*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

იმის დასადგენად თუ რამდენად შექცევადია ტოქსიკური ნაერთებით გამოწვეული ცვლილებები მცენარეში და რა არის შექცევადობის ზღვარი მცენარეები ნიტრობენზოლის 72-საათიანი ზემოქმედების შემდეგ, გადავიტანეთ ქსენობიოტიკისაგან თავისუფალ არეზე. როგორც აღმოჩნდა არსებობს ფერმენტის აქტივობის საწყის დონემდე დაბრუნების ტენდენცია. თუმცა მცენარეზე ნიტრობენზოლის მაღალი – 1,5mM კონცენტრაციის ზემოქმედებისას, არ ხდება საწყისი ფერმენტული აქტივობის აღდგენა. ამ

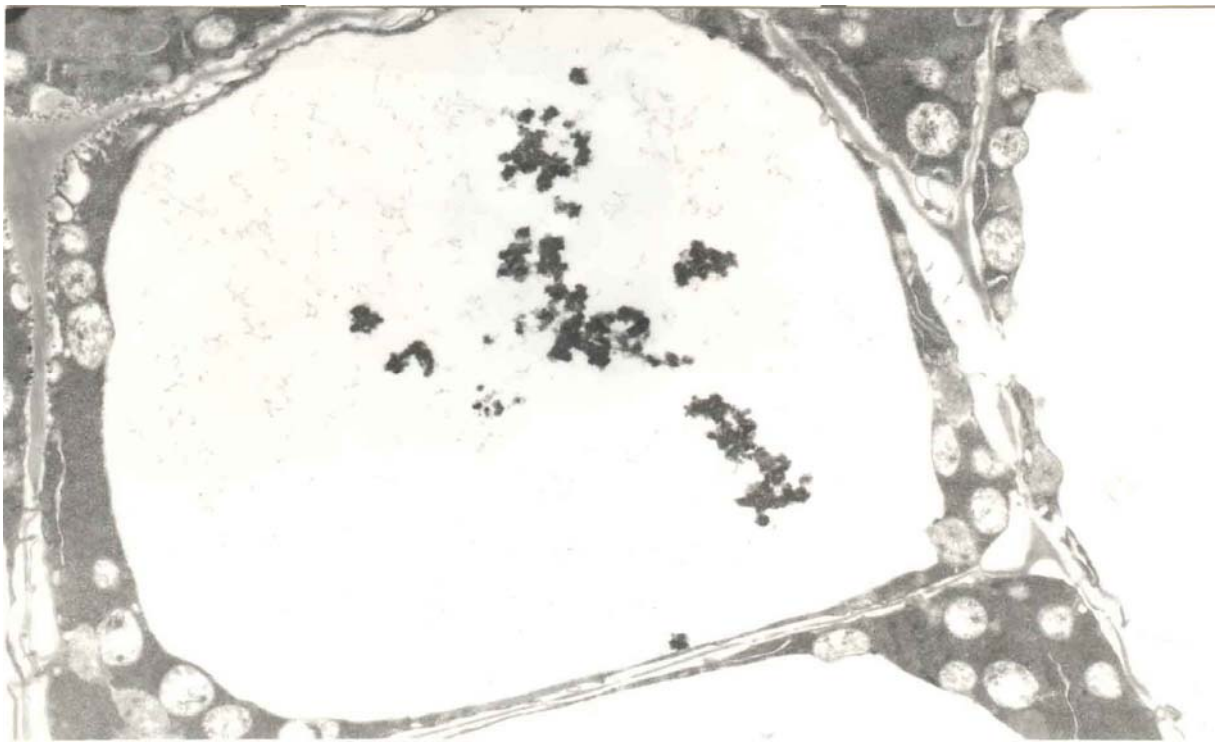
შემთხვევაში გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობის ინჰიბირება შეუქცევადია, რაც მიუთითებს ორივე მცენარისათვის ნიტრობენზოლის აღნიშნული კონცენტრაციის ტოქსიკურობაზე.

ელექტრონულმა მიკროსკოპიამ გამოავლინა 0,15mM კონცენტრაციის ნიტრობენზოლის ზემოქმედებით მცენარის უჯრედის ულტასტრუქტურაში მომხდარი ცვლილებები (სურ. 7-8). რაც გამოიხატებოდა რიბოსომების რაოდენობის ზრდასა და ენდოპლაზმური ბადის მრავალჯერად კონტაქტში მიტოქონდრიებთან და პლაზმალემასთან. ეს არის უჯრედების ულტრასტრუქტურის ტიპიური რეორგანიზაცია, რომელიც ხდება ქსენობიოტიკის ტრანსფორმაციის დროს, რათა ტოქსიკურობა გადატანილი იქნას (Kvesitadze et al., 2001, Zaalishvili et al., 2002). ამაზე მიუთითებს მიტოქონდრია დაზიანებული კრისტებით და გიგანტური ვაკუოლების წარმოქმნა, სადაც ინახება უჯრედის დაშლილი სტრუქტურები. რიბოსომების რაოდენობის ზრდა მიუთითებს უჯრედში ცილის სინთეზის ზრდაზე. ასეთი სურათი არ იქნა აღნიშნული სოიაში, რომელიც ცნობილია იმით, რომ შეიცავს ცილის დიდ რაოდენობას თვითონ ვეგეტატიურ ორგანოებში.

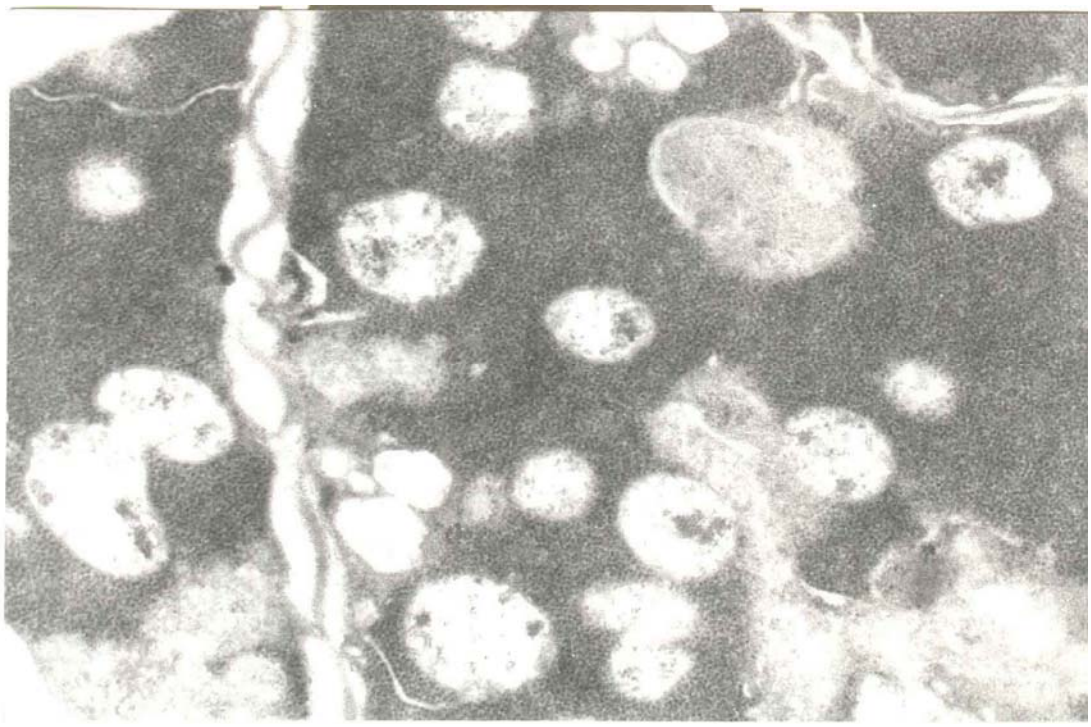
ამრიგად, ნიტრობენზოლის 0.015mM კონცენტრაცია არ იწვევს რაიმე შესამჩნევ ცვლილებას, მაშინ როდესაც გლუტამატდეჰიდროგენაზას აქტივობის მნიშვნელოვანი მომატება და გლუტამინსინთეტაზას მცირე ინჰიბირება შეიმჩნევა ნიტრობენზოლის 0.15mM კონცენტრაციის დროს. როგორც აღმოჩნდა, გლუტამინტსინთეტაზა ნაკლებად მგრძნობიარეა ნიტრობენზოლის მიმართ, გამონაკლისს წარმოადგენს მაღალი კონცენტრაციის (1,5 mM) გამოყენება.



სურათი 6. სიმინდის ფესვის კორტიკალური ზონის უჯრედი. საკონტროლო ვარიანტი. ×20000



სურათი 7. ნიტრობენზოლის 0.15mM გავლენა სიმინდის ფესვის კორტიკალური ზონის უჯრედებზე. 24 საათიანი ექსპოზიცია. გიგანტური ვაკუოლები ოსმიოფილური ჩანართებით, ნათელი მიტოქონდრიები. ×8000.



სურათი 8. ნიტრობენზოლის 0.15mM გავლენა სიმინდის ფესვის კორტიკალური ზონის უჯრედებზე. ციტოზოლში დიდი რაოდენობით რიბოსომები, ნათელი მიტოქონდრიები, მრავლობითი კონტაქტები ენდოპლაზმური რეტიკულუმის მიტოქონდრიებთან და პლაზმალემასთან. ×28000.A

ნიტრობენზოლის მაღალი 1.5mM კონცენტრაცია იწვევს ორივე შესწავლილი ფერმენტის აქტივობის ინჰიბირებას, რაც კიდევ უფრო ძლიერდება ექსპოზიციის ხანგრძლივობის მატებასთან ერთად. ნიტრობენზოლზე ინკუბაციის შეწყვეტის შემდეგ – მცენარის გადატანისას მისგან თავისუფალ არეზე აღინიშნება ფერმენტების აქტივობის საწყისი დონის აღდგენა ნიტრობენზოლის შეადრებით დაბალი 0.15mM კონცენტრაციის დროს, მაგრამ არა ძლიერ ტოქსიკური 1.5mM კონცენტრაციის შემთხვევაში.

ამრიგად, ნიტრობენზოლის დაბალი 0.015mM და 0.15mM კონცენტრაციები არ იწვევს შეუქცევად პროცესებს მცენარის აზოტის ცვლაში. რაზეც მიუთითებს აზოტის მეტაბოლიზმის ფერმენტების აქტივობების ინდუქცია ნახშირწყალბადის ზემოქმედებაზე

და ასევე საწყისი დონემდე დაბრუნება მისი ტოქსიურობის მოხსნის შემდეგ. უჯრედის ულტრასტრუქტურის მნიშვნელოვანი რეორგანიზაცია დაბალ კონცენტრაციებზე აგრეთვე მიანიშნებს უჯრედში სასიცოცხლო პროცესების მობილიზაციას ტოქსიკანტით გამოწვეული სტრესის საპასუხოდ. ნიტრობენზოლის 1,5mM კონცენტრაცია ორივე მცენარისათვის ტოქსიკურია და იწვევს გლუტამატდეჰიდროგენაზას და გლუტამინსინთეტაზას აქტივობების შეუქცევად ინჰიბირებას.

3.8 ტრინიტროტოლუოლის გავლენა სიმინდისა და სოიას ნაზარდებში აზოტის ცვლის ფერმენტებზე

ტრინიტროტოლუოლი (ტნტ) როგორც ფეთქებადი და უაღრესად ტოქსიკური ნაერთი გარემოს ერთ-ერთი ყველაზე პრობლემური დამბინძურებელია. იგი ნიადაგში საომარი მოქმედებისა და სამხედრო სწავლების შემდეგ რჩება. ორგანიზმში მოხვედრილი ტნტ ნელა ტრანსფორმირდება და წარმოქმნის ნიტროზო და ჰიდროქსილამინო წარმოებულებს, რაც მის ტოქსიკურობას განაპირობებს (Channon et.al., 1944; Brooks et al., 1997;Berthe-Corti et.al., 1998; Banerjee et, al., 1999). არომატული ნიტრონაერთები ურთიერთქმედებენ უჯრედის ბიომოლეკულებთან და იწვევენ ქიმიურ მუტაგენეზს (Spanngord et.al.,1982 Rafii et.al.,1994; Honeycutt et.al.,1996; Gong et.al., 1999). ამ გზით ტნტ მრავალი ქრონიკული დაავადების სტიმულატორია. ჩვენს მიერ შესწავლილია არომატული ნიტრონაერთის 2,4,6- ტრინიტროტოლუოლის 0,1mMM კონცენტრაციის გავლენა აზოტის მეტაბოლიზმში მონაწილე ძირითადი ფერმენტების აქტივობებზე და ცილის დაგროვებაზე 48 და 120 საათიანი ექსპოზიციის დროს.

ნაჩვენებია, რომ 0,1mM კონცენრაციის ტნტ-ს გავლენით სოიას ფოთლებში ადგილი აქვს გდჰ-ს აღდგენითი ამინირების სტიმულირებას 40-78%-ით, შესაბამისად როგორც 48 ისე 120სთ-იანი ექსპოზიციის დროს. ფესვებში კი ტოქსიკანტის არეზე 48სთ დაყოვნების შემთხვევაში ფერმენტის აქტივობა იკლებს 65%-ით, ხოლო შედარებით ხანგრძლივი ექსპოზიციის შემთხვევაში (120სთ) იმატებს მცირედ – 13%-ით. გდჰ-ს ჟანგვითი

დეზამინირების პროცესი ორივე ორგანოში ძლიერდება, განსაკუთრებით მნიშვნელოვნად (5-ჯერ) კი ფესვებში ორივე ექსპოზიციაზე (ცხრილი 11).

ტრინიტროტოლუოლის გავლენით გს აქტივობა სტიმულირდება ორივე ორგანოში, როგორც 48 ისე 120სთ-იანი ექსპოზიციის დროს, განსაკუთრებით ძლიერად ფესვებში. ამასთან ხანგრძლივი ექსპოზიციის დროს აქტივობის მატება უფრო მნიშვნელოვანია (89%) სოიას ფესვებში.

ცხრილი 11

გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსენთეტაზას აქტივობები, სოიას 5-დღიანი აღმონაცენების 2,4,6-ტრინიტროტოლუოლის 0.1mM ხსნარზე 48 და 120 სთ-იანი ექსპოზიციისას

ინკუბაციისდრო, სთ	ორგანო	ცდის ვარიანტი	გდჰ-ს ხვედრითი აქტივობა		გს მკმოლი γ-გჰმ */წთ 1 მგ ცილაზე	ცილა მგ/მლ
			აღდგენითი ამინირება, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე	ჟანგვითი დეზამინირება, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე		
48	ფესვი	საკონტროლო	0.251±0.012	0.009±0.001	2.75±0.137	0.55±0.027
		TNT	0.087±0.004	0.047±0.002	4.27±0.212	0.55±0.027
	ფოთოლი	საკონტროლო	0,023±0.001	0.017±0.001	0.58±0.029	2.60±0.129
		TNT	0.041±0.002	0.024±0.001	0.60±0.030	2.25±0.112
120	ფესვი	საკონტროლო	0.015±0.001	0.006±0.001	1.47±0.070	1.36±0.068
		TNT	0.017±0.001	0.032±0.002	2.78±0.138	0.91±0.045
	ფოთოლი	საკონტროლო	0.05±0.002	0.011±0.001	0.63±0.031	4.29±0.213
		TNT	0.07±0.003	0.015±0.001	0.75±0.037	4.75±0.236

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

ცხრილი 12

გლუტამატდეჰიდროგენაზასა და გლუტამინსენთეტაზას აქტივობები, სიმინდის 5-დღიანი აღმონაცენების 2,4,6-ტრინიტროტოლუოლის 0.1mM ხსნარზე 48 და 120სთ-იანი ექსპოზიციისას

ინკუბაციის დრო, სთ	ორგანო	ჩდის ვარიანტი	Gგდჰ-ს ხვედრითი აქტივობა		Gგს მკმოლი γ-გჰმ */წთ 1 მგ ცილაზ	ცილა მგ/მლ
			აღდგენითი ამინირება, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე	ჟანგვითი დეზამინირება, მკმოლი ნადH/წთ 1 მგ ცილაზე		
48	ფესვი	საკონტროლო	0.078±0.004	0.051±0.003	4.07±0.202	0,45±0.223
		TNT	0,108±0.005	0.065±0.003	5.33±0.265	0,40±0.020
	ფოთოლი	საკონტროლო	0.071±0.004	0.007±0.001	1.44±0.072	1,35±0.067
		TNT	0.066±0.003	0,012±0.002	1.34±0.067	1.45±0.072
120	ფესვი	საკონტროლო	0.028±0.001	0.039±0.002	1.41±0.07	0.47±0.023
		TNT	0.057±0.003	0.042±0.002	1.50±0.075	0.42±0.021
	ფოთოლი	საკონტროლო	0.018±0.001	0.004±0.002	0.82±0.041	1.55±0.077
		TNT	0.022±0.001	0.017±0.001	0.89±0.044	1.86±0.092

*γ-გლუტამილჰიდროქსამის მჟავა

სიმინდის შემთხვევაში (ცხრილი 12), ტნტ-ს ტოქსიკური ეფექტი შედარებით ნაკლებადაა გამოხატული ფესვებში. გს აქტივობის მატება შეინიშნება მხოლოდ ფესვებში 48-საათიანი ექსპოზიციისას 30%-ით, ხოლო გლუტამატდეჰიდროგენაზას ჟანგვითი დეზამინირების მნიშვნელოვანი ინდუქცია გამოვლინდა ფოთლებში 325%-ით ხანგრძლივი (120სთ) ექსპოზიციის დროს.

სურათი 9. სოიასა და სიმინდის ფესვებისა და ფოთლების გლუტამატდეჰიდრო გენაზას ზიმოგრამა. ნატიური ელექტროფორეზი აკრილამიდის 10-15%-იან გრადიენტულ გელში

1,3,5,7 – საკონტროლო; 2,4,6,8 - 0.1mM ტნტ გავლენით

1,2,5,6 – ფესვები; 3,4,7,8 – ფოთლები.

როგორც ზიმოგრამიდან (სურათი 9) ჩანს, ნად სპეციფიკური გდჰ სოიასა და სიმინდის ფესვებსა და ფოთლებში წარმოდგენილია ერთი იზოფორმით. რომლის ინტენსივობა გაცილებით მეტია ტნტ-ზე ექსპონირებულ მცენარეთა ფესვებში.

ამრიგად, ტრინიტროტოლუოლის გავლენით ადგილი აქვს გდჰ ჟანგვითი დეზამინირების რეაქციების გააქტიურებას სოიასა და სიმინდის აღმონაცენების ფესვებში, რაც უფრო მკვეთრადაა გამოხატული ხანგრძლივი ექსპოზიციის შემთხვევაში. გდჰ დეზამინირების რეაქციის გააქტიურება დაკავშირებული უნდა იყოს უჯრედის მომარაგებასთან ამინომჟავების ნახშირბადოვანი ჩონჩხით, წარმოქმნილი ენერგეტიკული დეფეციტის აღმოსაფხვრელად.

დასკვნები

1. საქართველოში გავრცელებული სოიას სხვადასხვა ჯიშისა და სიმინდის აღმონაცენების გს და გდჰ აქტივობების შესწავლის საფუძველზე დადგენილია გს და გდჰ-ის ურთიერთკომპენსატორული როლი ამონიუმის ასიმილაციაში. ნაჩვენებია გდჰ-ს უპირატესი როლი ამონიუმის ასიმილაციაში შედარებით ზრდადასრულებულ მცენარეში.

2. დადგენილია მიკროელემენტების Mg, Mn და Zn პროფილაქტიკური დოზების მასტიმულირებელი გავლენა აზოტის ასიმილაციის ფერმენტების აქტივობებზე, და შესაბამისად აზოტის ასიმილაციაზე.

3. ნაჩვენებია, რომ სიმბიოზური და თავისუფლად მცხოვრები აზოტმაფიქსირებელი მიკროორგანიზმების შტამებით *Bradyrhizobium japonicum*, *Azospirillum brazilense*, და აქტინომიცეტებით S*treptomyces fradiae 110 და Geodermatophilus obscurus2'LD* სოიას თესლის ინოკულაციის შედეგად იზრდება ვეგეტატიურ ორგანოებში აზოტის ასიმილაციის ფერმენტების აქტივობები და მოსავლიანობა.

4. ნაჩვენებია აზოტის ასიმილაციის ფერმენტების აქტივობების დათრგუნვა სოიას ახალგაზრდა აღმონაცენებში დაბალტემპერატურული სტრესის პირობებში. გს და გდჰ სავარაუდოდ არ უნდა მონაწილეობდნენ სოიას მცენარის ადაპტაცია-შიGდაბალტემპერატურული სტრესის მიმართ.

5. გამოვლენილია გს და განსაკუთრებით გდჰ მონაწილეობა სოიას ფიტოპათოგენური სოკო ფუზარიუმით და ბაქტერიებით *Xanthomonas vesicatoria* და *Corynebacterium michiganense* ინფიცირების სტრესისადმი ადაპტაციაში.

6. ა) გამოვლენილია გს და გდჰ განსხვავებული რეაქცია ნიტრობენზოლის სხვადასხვა კონცენტრაციის (0.015mM, 0.15 mM, 1.5mM) გავლენით. ნაჩვენებია ამ ფერმენტების აქტივობებისა და უჯრედის ულტრასტრუქტურული ცვლილებების შექცევადობა ნიტრობენზოლის დაბალი კონცენტრაციებით (0.015mM, 0.15 mM). 1.5mM ნიტრობენზოლის გავლენით გამოწვეული ცვლილებები შეუქცევად ხასიათს ატარებს.

ბ) დადგენილია გდჰ მნიშვნელოვანი სტიმულირება ნიტრობენზოლის (0.015mM, 0.15mM) გავლენით ჟანგვითი დეზამინირების რეაქციაში რაც სავარაუდოდ განპირობებული უნდა იყოს ამ ფერმენტის მონაწილეობით დეტოქსიკაციის პროცესში უჯრედის გაზრდილი ენერგეტიკული მოთხოვნილების უზრუნველყოფაში.

7. ტრინიტროტოლუოლის გავლენით ნაჩვენებია გდჰ გააქტიურება ჟანგვითი დეზამინირების რეაქციაში ფესვებში. გდჰ დეზამინირების რეაქციის გააქტიურება ხანგრძლივი ექსპოზიციის პირობებში დაკავშირებული უნდა იყოს უჯრედის ენერგეტიკული საწვავით მომარაგებასთან.

გამოყენებული ლიტერატურის სია

1. ახვლედიანი ქ. 1980. თსუ გამომც. ფერმენტოლოგიის მოკლე კურსი. თბილისი.
2. გორდეზიანი მ., ხატისაშვილი გ., კირთაძე ე. 2004. ბიოენერგეტიკა და ჟანგვითი პროცესების რეგულაცია. ს. დურმიშიძის ბიოქიმიისა და ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტის ბიოლოგიური ჟანგვის ლაბორატორია. თბილისი გვ.102-103.
3. დიდებულიძე ა. 1997. სოფლის მეურნეობის განვითარება საქართველოში: პრობლემები და პერსპექტივები. თბილისი.

4 ებელაშვილი მ. კუპრავა ნ. 2000. მცენარის უჯრედში ნიტრობენზოლის ჰიდროქსილირების მექანიზმების ელექტრონულ-მიკროსკოპული დასაბუთება. *III-რესპ. კონფ. ქიმიაში. თბილისი.*

5 კვესიტაძე გ., კვესიტაძე ე. 1999. ბიოტექნოლოგია თბილისი გვ.165

6 პაპუნიძე ვ.,ხატისაშვილი გ., სადუნიშვილი თ. 2005. მცენარე ჟანსაღი გარემოსათვის. ბათუმი.

7 ტყემალაძე გ. კვესიტაძე გ, "პრაქტიკული ენზიმოლოგია"1975 გვ. 167

8 ვარაზაშვილი თ, ყურაშვილი მ., ფრუიძე მ., გორდეზიანი მ. 2000. მცენარის ადაპტაციურ პროცესებში მონოოქსიგენაზური სისტემის მონაწილეობის შესახებ თბილისი. აგრალური მეცნიერების პრობლემები. შრომათა კრებული, გვ.110-112.

9 ვარაზაშვილი თ. 2001. "მცენარის მონოოქსიგენაზური სისტემის საპასუხო რეაქციები გარემოს სტრესებისადმი ადაპტაციაში". B// ავტორეფერატი ბმკ სამეცნიერო ხარისხის მოსაპოვებლად. თბილისი. გვ. 32.

10 Анспок П.И. 1990. Микроудобрения, Агропромиздат.

11 Баскакова С. Ю., Измайлов С. Ф., Асеева К.Б., Ц. па Г.П., Смирнов А.М. Ферменты ассимиляции азота в органах растений. –Тез. Всесоюз.симп. по механизмам усвоения азота и биосинтезу белка в растениях. Алма-Ата, 1981, с. 41.

12 Бреслер В.М. 2002 Организм защищается от загрязнении. *Наука и Жизнь* № 7. 2002

13 Варазашвили Т., Курашвили М., Пруидзе М., Гордезиани М. (2001) Об участии монооксигеназной системы в процессах адаптации растении. Известия Академии наук грузии. Биологическая серия , 27, 33-37

14 Веселова Т.В., Веселовский В.А., Чернавский Д.С., Стресс как фаза адаптации растительной клетки к супероптимальным воздействиям. Тезис доклада второго съезда всесоюзного общества физиологов растений. Москва 1990. с.20

15 Воиников В.К., Коритов М.В, 1990 Синтез стрессовых белков в клетках высших растений при низкой температуре. Тезис доклада второго съезда всесоюзного общества физиологов растений. Москва 1990. с.20

16 Воробьев В.А. Симбиотическая азотфиксация и температура.Наука, 1998 128 с.

17 Гайер. 1974. Электронная гистохимия. М., Мир, 448.

18 Генетика симбиотической азотфиксации с основами селекции. Под редакцией И.А. Тихоновича и Н.А.Проворова.Санкт-Петербург «Наука» 1998. с.105

19 Гильмонов В.К., Дильбарканова Р., Шалахметова Г.А. Особенности глутаматдегидрогеназы зерна пшеницы.-Тез. Ш конф. Биохимиков Средней Азии и Казахстана, Душанбе, 1981, т.1, с.61.

20 Гордезиани М.Ш. Цитохром Р-450 в растениях. Изд. АН ГССР сер. Биол. 1987, 13, 177-186.

21 Гордезиани М.Ш., Хатисашвили Г.А., Квеситадзе Г.И. 1999 Свободное и сопряженное с гидроксилированием ксенобиотиков окисление NADPH. *ДАН СССР*, 320, 2, 417-420

22 Грин Н., Стаус У., Теилор. Биология, т. 1-3 М.,1990

23 Дурмишидзе С., Девдвриани Т., Кахниашвили Х., Буадзе О. (1988)Биотрансформация ксенобиотиков в растениях. Изд.“Мецниереба“

24 Джохаридзе Г. Две формы глутаминсинтетазы в листьях тыквы. Автореферат на соиск. ст. канд. биол.наук. М.:1980

25 Евстигнеева З. 1988. Глутаминсинтетаза: роль в азотном метаболизме растении, регуляция и структура. Баховское чтение М.: Наука , с. 1-64.

26 Евстигнеева З., Пушкин А., Радюкина Н., Кретович В. 1977. Индукция глутаминсинтетазы аммонием и локализация ее в хлоропластах и цитозоле листьев гороха. Докл. АН СССР, т.237. № 4, с. 962-964.

27 Егоров К. 2006. Кафедра агрохимии МГУ им. В.М.Ломоносова “Элементы питания и их роль в жизни растений“ 2006

28 Жизнь растений. Том 1. Введение Бактерии и актиномицеты\Под редакцией члена-корреспондента АН СССР, профессора Н.А. Красильников, профессора А.А. Уранов М. 'Просвещение', 1974, 487 с. с ил.; 31 л. ил., карт

29 Игнатов В.В. 1998. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы. Соросовский образ. ж. № 9. с. 28-33.

30 Игошина Т., КосицинА. 1975. О глутаматдегидрогеназной активности цинкосодержавщего белка из хлоропластов томата. Физиол. Растении ,т.22, № 2, с. 426-427.

31 Исмаилов С.Ф. Физиология растении, 28, 3, 1981 635-656.

32 Карузина, И.И., Арчаков, А.И. (1977) В сб.: *Современные методы в биохимии,* М., Медицина, 53-63.

33 Квеситадзе Г.,Хатисашвили Г., Садунишвили Т., Евстигнеева З. 2005. Метболизм антропогенных токсикантов в высших растениях. М. Наука. – 199с.

34 Кладницкая Г.В., Валуева Т.А., Домаш В.И., // Прикл. Биохимия и микробиология. 1994. Т.30. №1. С. 198-201.

35 Красильников Н.А. - Жизнь растений. Том 1. Введение Бактерии и актиномицеты\Под редакцией члена-корреспондента АН СССР, профессора Н.А. Красильников, профессора А.А. Уранов М. 'Просвещение', 1974, 487 с. с ил.; 31 л. ил., карт

36 Кретович В .Л.Обмен азота в растениях.М. Наука, 1972.

37 Кретович В., Карякина Т., Ткемаладзе Г. 1969. Регуляторные функции аммиака в корневой системе гороха. Извест. АН СССР, сериа биолог. №5, с. 759-766.

38 Кулинский В.И. (1999) Обезврежение ксенобиотиков. Статя соросовского Образ. Ж. http://www.pereplet.ru.

39 Культиасов И.М. Экология растений. - М.: Изд-во московского ун-та, 1982.

40 Ладонин В.Ф. Пронина Н.Б. Влиание 2,4- D на оксидазную и пероксидазную активность в листях ясеня и гороха.- Физ. и биох. культурных растении, 1977, т.9, №3, с. 144-153

41 Лининджер А. Основы биохимии М.: Мир., 1985 с. 55-60.

42 Ли Т. Е., Липс С. Г.. Изменения в активности ключевых ферментов азотного метаболизма в условиях осмотического стресса и засоления. Вестник башкирского университета. 2001. №2 (II) С. 90-92.

43 Матышевская М.С. В Влияние фитопатогенных бактерий на физиолого-биохимичесие свойства растений Изд. “Наукова думка”. Киев 1975

44 “Номенклатура ферментов“ Москва, 1979, ст. 297.

45 Поликарпочина Р.Т. 1968. О роли цинка в азотном обмене растении кукурузы. Агрохимия, 3

46 Поликарпочина Р.Т., Хавкин Э. Е, 1972. Роль цинка в азотном обмене растущих

клеток. Физиол. растении, 19, 3ж 597.

47 Поликарпочкина Р. 1975. О присутствии цинка в глутаматдегидрогеназе корней кукуркзы. Физ. Растении, т. 22 . № 5, с. 971-975.

48 Поликарпочкина Р.Т. О присутствии цинка в глутаматдегидрогеназе корней кукурузы. В кн. Рост и клеточная дифференцировка растений, М. 1967, с. 56-61

49 Пономарева А.Н. Динамика низкомолекулярных азотистых соединений в онтогенезе пшеницы. – Физиол. Раст.,1967, 14. 6, 1104)

50 Пушкин А., Евстигнеева З., Кретович В. 1973. Влиание магния и марганца на активность глутаминсинтетазы из семян гороха. Доклад АН СССР .т. 212, № 2, с.502-505.

51 Садунишвили Т.А., Нуцубидзе Н.Н. Влияние аммония in vivo на глутаминсинтетазу и глутаматдегидрогеназу и их внутриклеточная локализация в листьях фасоли. *Биохимия*. 1985, 50, 5, 820-825.

52 Садунишвили Т.А., Нуцубидзе Н.Н. Множественные молекулярные формы глутаматдегидрогеназы у фасоли. Прикладная Биохимия и Микробиология. 1986, 22, 3, 337-340.

53 Садунишвили Т.А., Гварлиани Н.З., Нуцубидзе Н.Н. Пурвичная ассимиляция аммония в листьях фасоли. Биохимия. 1989, 54, 3, 511-515.

54 Селье Г. На уровне целого организма. М.: Наука, 1972. 122 с.

55 Тарасов В.Н., Наумов В.Д., Журавлева А.Н., Наумова Л.М. Розеточность яблони на юге Украины и меры борьбы с ней. // Микроэлементы в окружающей среде. /Под ред. Власюка П.А./ -Киев: Наукова думка, 1980. -С.69-73.

56 Ткемаладзе Г. 1984. Кинетическое поведение NAD(P) – глутаматдегидрогеназы виноградной лозы и чайного растения. Прикл. Биох. и микроб. т.20, №1,с. 38-42.

57 Удивенко Г.В., “Общие механизмы адаптации растений к экологическим стрессам, финкционирующие на разных уровнях биологической организации”. Тезис доклада второго съезда всесоюзного общества физиологов растений. Москва 1990. с.92

58 Уикли,Б. 1975. Электронная микроскопия для начинающих. М., Мир, 324.

59 Фатеев А.И., .Булыгин С.Ю "Микроэлементы в сельском хозяйстве".//Инс. почвоведения и агрохимии УААН - Харьков, 2001 г.

60 Фритц Дж, Шенк Г. Количественный анализ. Изд. Мир Москва, с. 36-37. 1978).

61 Хочачка П., Сомеро Дж. Биохимическая адаптация. М.: Мир, 1988. 568 с.

62 Шатилов В. Р. Труды 16-ой конференции ФЕБО. М. Наука, 1987.N 1. С. 220-223

63 Школьник М. Я., 1974 “Микроэлементы в жизни растении”. Изд. Наука. Ленинград.

64 Школьник М.Я. Значение микроэлементов в жизни растений и в земледелии. Изд. АН СССР, 1965

65 Шлегель Г. 1997. Обшая микробиология. М.Мир.,

66 Юрин В.М. Основы ксенобиологии. Мн.: Новое знание,2002

67 Adamia G., Khatisasvili G., Varazashvili T., Ananiashvili T., Gvakharia V., Adamia T., Gordeziani M. 2003. Determination of the Type and Rate of Soil Contamination With Heavy Metals and Organic Toxicants on the Territories of Military Prooving Grounds in Georgia. Georgian Academy of Sciences Vol. 167 N 1,155-158.

68 Anlezark G., Melton R., Sherwood R., Coles B., Fridlos F., Knox R.(1992) The bioactivation of 5-(aziridin-1-yl)-2,4-dinitrobenzamide (CB1954)-1.Purification and properties of a nitroreductase enzyme prodrung theraoy(ADEPT). *Biochem. Pharmacol*. 44, 2289-2295.

69 Banerjee H., Verma M., Hou L., Ashraf M., Dutta S. (1999) Cytotoxicity of TNT and its metabolites. *Yale J. Biol. Med*. 72,1-4

70 Barash I, Mor H, Sadon T 1976 Isoenzymes of glutamate dehydrogenase from oat leaves: properties and light effect on synthesis. Plant Cell Physiol. 17: 493-500.

71 Barash I., Sadon T., Mor H. 1973; Induction of a specific izoenzyme of glutamate dehydrogenase by ammonia in oat leaves. Nature New Biology, v. 144, N 135, p. 150-152.

72 Bataynen N., Kopacz S.I., Lee C.P. The modes of action of long chain alkali compounds on the respiratory chain-linked energy transducing system in submitochondrial particles Arch.Biochem.Biophys, 250, 476-487, 1986

73 Berthe-Corti L., Jacobi H., Kleihauer S., White I.(1998) Cytotoxicity and mutagenicity of 2,4,6- trinitrotoluene (TNT) and hexogen contaminated soil in *Samonella typhimurium* and mommalian cells. *Chemosphere* 37, 209-218.

74 Betsiashvili M., Kuprava N., Sadunishvili T., Nutsubidze N. Study of the Soybean Protein Amino Acid Composition and Preparation of High Nutritional Value Food Protein Product, Bulletin of the Georgian Academy of Sciences, 2003, vol. 167, No 1, 130-133.

75 Betsiashvili M., Sadunishvili T., Gigolashvili G., Nutsubidze N., Kvesitadze G. Valuable food protein preparation from soybean. Advances in Food Sciences, 2002, 24, 1, 20-23. http://www.psp-parlar.de/ ISSN: 1431-7737.

76 Blasco R.,Castillo F.(1993) Characterization of a nitrifenol reductase from the phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus* E1F1. Appl. *Environ.Microbiol.*59, 1774-1778.

77 Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Annal.Biochem. 59, 277-282, 1974.

78 Brangeon J., Hirel G. et al. Immonogold localization of glutamine synthetase in soybean leaves, roots and nodules // Protoplasma. 1989. Vol. 151. P.88-97.

79 Braynt D., McCalla D., Leelsma M., Leneuvill P. (1981) Type I nitroreductase of *Escherichia coli*. *Can. J. Microbiol*. 27, 81-86.

80 Brooks L., Jacobson R. Warren S., Kohan M., Donnelly K., George S.(1997) Mutagenecity of HPLC-fractionated urinary metabolites from 2,4,6- trinitrotoluene-freated Fischar 344 rats. *Enviov. Mol. Mutagen*. 30, 298-302.

81 Bryant C., DeLuca M.(1991) Purification and aharacterization of an axygeneinsensitive NAD(P)H nitroreductase from *Enterobacter cloacea*, J. Biol. Chem, 266, 4119-4125.

82 Bryant C., Hubbard W., McEltoy. (1991) Cloning, nucleotide seqvence, and expression of the nitroreductase gene from *Enterobacter cloacea*, J. Biol. Chem, 266, 4126-4130.

83 Buedining E., Jollife N.(1946) Metabolism of trinitrotoluene (TNT) in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Tuer.* 88, 300-312.

84 Bulen W. 1956. The isolation and characterization of glutamate dehydrogenase from corn leaves. *Arch. Biochem. Biophys*., v. 62. N1, p. 173-183

85 Bumprus J., Tatarko M. (1994). Biodegradation of 2,4,6- trinitrotoluene by *Phanerochaete chrysosporium:* identification of initial degradation products and the discovery of a TNT metabolite thet inhibits lignin peroxidaze. *Curr.Microbiol*. 28, 185-190.

86 Caballero A., Esteve-Núñez A., Gerben J. Zylstra, and Juan L. Ramos.2005. Assimilation of Nitrogen from Nitrite and Trinitrotoluene in *Pseudomonas putida* JLR11. *Journal of Bacteriology*, p. 396-399, Vol. 187, No. 1

87 Chanishvili Sh. Methodology of experimentation. 1973. Mecniereba, Tbilisi (in Georgian)

88 Channon N., Mills G., Williams R. (1944) The metabolism of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT).*J Biochem* 38, 70-85.

89 Chou K., Spilttstoesser W. 1972. Importance of glutamate synthase in glutamate synthasis by soybean cell suspension cultures. . *Phytosoil. Plant.,* v. 49. N4, p.550-554

90 Chrikishvili D., Sadunishvili T., Zaalishvili G. Benzoic acid conjugation and the final fate of conjugates in higher plants. Ecotoxicol. Environ. Safety, 2006 (In press YEES 3185, available online since June 2005 at www.sciencedirect.com

91 Davies D., Teixeira A. 1975. The synthesis of glutamate and the control of glutamate dehydrogenase in pea mitochondria. Phytochemistry, v. 14, N3, p. 647-658

92 DelCampo F., Ramirez J., Panaqvue A., Losada M. (1966) Ferredixin and the dark and ligt reduction of dinitrophenol. *Biochem. Biophys*. *Res. Commun.* 22, 547-553.

93 Dougall D.K. 1974. Evidence for the presence of glutamate synthase in axstract of carrot cell cultures. - Biochem. Biophys. Res. Commun., v. 58, N4, p. 639-646.

94 Duke S. H. , Koukkari W.L., Soulen T.K. Glutamate dehydrogenase activity in routs: Distribution in a seeding and in storage root and the effects of red and far-red illumination.- Physiol.Plant., 1975, v. 34, N1, p.8-13.

95 Durst F., Benveniste I., Lesot A.A., Salaun J.-P., Werk-Reichhart D. Induction of plant cytochrome P450. In: Regulation of enzymatic systems detoxifying xenobiotics in plants. Kluwer, Dordrecht, 19-34, 1997.

96 Edwards J., , Coruzzi G. 1989. Photorespiration and light act in concert to regulate the axpression of the nuclear gene for chloroplast malate glutamine synthetase. The Plant Cell, v. 1, N2, p. 214-248.

97 Egli M.A., Griffith S. M., Miller S.S. Nitrogen assimilating anzyme activities and anzyme protein during development and senescense of affective and Plant gene-controlled ineffective alfalfa nodules// Plant Physiol. 1989 Vol. 91. P. 898-904.

98 El-Havari , A.M., Hodgson J.R., Winston J.M., Sawyer M.D., Lee C.C. 1981.*Species differences in the disposition and metabolism of 2,4,6- trinitrotoluene as afunction of administration*. Final Report. Midwest Reserch institute, Project 4274-B, Kansas citi, MO. DAMD17-76-C-6066. AD_A114-025.Cited in EPA 19889, 1990

99 Elliott W.H.1953. Isolation of glutamine synthetase and glutamattransferaze from green

peas. J. Biol. Chem., 201, 2:645)

100 EPA. (1991 b) Integrated Risk Information System (IRIS). *Risk Estimate for Carceninodenicity and Reference Dose for Oral Exposure for 2,4,6-Trinitrotoluene*. Online file. Office of Health and Environmental Assessment Cincinnati, Oh.

101 EPA. (1991a) *Healt Effects Summary Tables. Annual FY-91*. Prepared by the Office Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office, Cincinnati, OH, for the Office of Emergency and Remedial Response. Washington, D.C. OERR 9200. 6-303(91-1). NTIS PB91-921199.

102 Esteve-Nuňez A., Caballero G., Ramos J.(2001) Biological degradation of 2,4,6-trinitrotoluene. *Microbiology and molecular Biology Reviews,* 65, 335-352

103 Fawole M.O., Boulter D. Purification and properties of glutamate dehydrogenase from Vigna unguiculata L.Walp. –Planta,1977,v.134, N2, p.97-102

104 Gerland W.J., Dennis D.T. Steady-state kinetics of glutamate dehydrogenase from Pisum sativum L. mitochondria. –Arch.Biochem.Biophys., 1977, v.182, N2, p.614-625

105 Givan C.V. Metabolic detoxification of ammonia in tissues of higher plants. Pytochem., 1979, v.18, N3, p.376-382

106 Glaus M., Neijman C., Schwarzenbach R., Zeyer J.(1992) Reduction of nirtoaromatic compounds mediated by Streptomyces sp. *Arch. Environ. Contam. Microbiol.* 58, 1945-1951.

107 Gong P., Wilke S., Fleischmann.(1999) Soil-based phytotoxicity of 2,4,6- trinitrotoluene (TNT) to terreetrial higer plants. *Arch. Environ. Contam. Toxiaol*. 36, 152-157.

108 Goodwin A., Kersulyte G., Sisson S., Veldhuyzen van Zenten, Berg P., Hoffman P.(1998) Metronidazole resistence in *Helicobacter pylori* is due to nuii mutations in a gene (*rdx*A) thet encodes an oxygen-insensitive NADPH nitroreductase. *Mol. Microbiol*. 28, 383-393.

109 Guy S., Berger M., Planchom C. // Plant Science. 1997.V 123. №1/2. P.67-75.

110 Hartmann T., Ehmke A. 1980. Role of mitochondrial glutamate dehydrogenase in the reassimilation of ammonia produced by glycine-serine transformation. *Planta* v. 149. N2, p. 207-208

111 Hartmann Th. 1973. Endogen and exoden ausgeloste Anderung des isoenzym spektrums ger NAD-spezifischen Glutamatdehydrogenase in spsros von Pisum sativum. *Planta*, v.111, N2, p.119-128

112 Herade N., Omura T., (1980) Participation of cytocrome P-450 in the reduction of nitro compounds by rat liver microsomes. *J.Biochem*. 87, 1539-1554.

113 Hofstetter T., Heijman S., Hederlein S., Nolliger C., Schvarzenbach R.(1999) Complete reduction of TNT and other (poly)nitroaromatic compounds under iron-reducing subsurface conditions. *Environ. Sci. Technol. 33, 1479-1487.*

114 Honeycutt M., Jarvis A., McFarland V. (1996) Cytotoxicity and mutagenicity of 2,4,6-trinitrotoluene and metabolites. *Ecotoxicol. Environ. Saf*. 35, 282-287.

115 Huang S., Lindahl P., Wang C., Bennett G., Rudolph F., Hughes J.(2000) 2,4,6-trinitrotoluene reduction by carbon monoxide dehydrogenase from *Clostridium thermoaceticum*. *Appl. Environ. Mikrobiol.* 66, 1474-1478.

116 Huges T.A., Elkan G.H. Lack of specific binging of labelled Rhizobium japonicum lipopolysaccharides to wild soybean (Glycine soya) roots// Plant end Soil. 1985 Vol. 84. P. 115-119

117 Joy K. W. 1988. Ammonia, glutamine and asparagine: a carbonnitrogen interface. Canadian J. of Botany, v. 66, N12, p.2103-2109

118 Kanamori T., Konishi Sh., Takahashi E. 1972. Inducible formation of Glutamate dehydrogenase in rice plant roots by the addition of ammonia to the media. *Plant Physiol.*v.26, N1, p.1-6

119 Kijne J.M. The Rhisobium infection process// Biological Nitrogen Fixation. New York; London, 1992 P. 349-398.)

120 Kindt R., Pahlich E., Rasched I. 1980. Glutamate dehydrogenase from peas: isolation, quaternary structure and influenc of cations on activity. *Eur. J. Biochem*., v 112, N3, p.533-540

121 King Yung-Fan Wu W. 1971. Partial purification and kinetic properties of Glutamate dehydrogenase from soybean cotyledons. *Phytochemistry,* v.10, N5, p.915-928.

122 Kinouchi T., Manabe K., Wakisaki., Ohnishi Y. (1982) Biotransformation of 1-nitropyrene in intenstinal anaerobic bacteria. *Microbiol. Immunol*. 26, 992-1005

123 Kisban C., Horvath M., Dezsi L., Udvary J., Farkar G. 1964. Role of the root system in the regulation if enzyme levels in leaf tissues. *Acta Bot. Acad. Hungar*., v 10. F. 3-4, p. 275-287.

124 Kitts C., Green R., Ottley M., Alvares M., Unkefer P.(2000) Type I nitroreductases in soil

enterobacteria reduce TNT (2,4,6- trinitrotoluene) and RDX(hexahydro-1,3,5-trinitri-1,3,5-triazine). *Can J. Microbiol*. 46, 278-282.

125 Klausen J., TrÖber S., Haderlein S., Schwarzenbach R.(1995) Reduction of substituted nitrobenzenes by Fe(II) in aqueous mineral suspensions. *Environ. Sci. Technol.29. 2396-2404.*

126 Kobori T., Hiroshi W., Lee S., Zenno K., Saigo M., Murphy M., Tanokura M. (2001) Structure and site-directed mutagenesis of a flavoprotein from *Escherichia coli* that reduces nitro compounds.*J. Biol. Chem*.276, 2816-2823.

127 Koldasova A.S., Shalakhmetova G.A., Gilmonov M.K.Exstraqcion, purifikacion and study of physical end chemical proporties of enzimes complex. Works of the Kazakstan State Institute Scien. and Thechnical information. 1997 № 7645-Ka 97

128 Korte F., Kvesitadze G., Ugrekhelidze D., Gordeziani M., Khatisashvili G., Buadze O., Zaalishvili G., Coulston F. *Review: Organic toxicants and plants.* Ecotoxicology and Environmental Safety. 47, 1, 1-26, 2000

129 Kvesitadze G., Gordeziani M., Khatisashvili G., Sadunishvili T., Ramsden J.J. *Review: Some aspects of the enzymatic basis of phytoremediation.* Journal of Biological Physics and Chemistry*,* 1, 2, 49-57, 2001.

130 Kvesitadze G., Khatisashvili G., Sadunishvili T., Evstigneeva Z.G. Detoxification of antropogenic toxicants in higher plants. p. 216, Maik-Nauka, 2005 (In Russian).

131 Kvesitadze, G., Khatisashvili, G., Sadunishvili, T, Ramsden, J.J. *Biochemical mechanisms of detoxification in higher plants*. *Basis of Phytoremediation*. Springer, 2006.

132 Kvesitadze, G.I., Kokonashvili, G.N., Sadunishvili, T.A. *Enzymes of nitrogen and energy metabolism from the liver of spiny dogfish and in the preparation Katrex*. Applied Biochemistry and Microbiology*,* 29, 1, 131-137, 1993.

133 Lauriere C., Daussant J. 1983. Identification of the ammoniumdeperent isoenzyme of glutamate dehydrogenase as the form induced by senescence or darkness stress in the first leaf of wheat. *Plant. Physiol*., v. 58, N1, p. 89-92.

134 Lauriere C., Weissman N. 1981. Glutamate dehydrogenase in first leaf wheat. I.Antigenic polymorphism*. Phytosoil. Plant*, v.52, N1, p.146-150

135 Le'John H. 1971. Enzyme regulation, Lysine pathway and ceii wall struqtures as indicators of major lines of evolution in fungi. *Nature*, v. 231, N5299, p. 164-168.

136 Lea P., , Miflin B. 1974. Alternative route for nitrogen assimilation in higher plants. – Nature, v.251, p. 614-616.

137 Lea PJ, Miflin B. 2003 Glutamate synthase and the synthesis of glutamate in plants. Plant Physiol. Biochem. 41: 555-564.

138 Lea P., Thurmann D. 1972. Intracellular localization and proporties of plant L- glutamate dehydrogenase. *J. Exp. Bot*. v.23, N75, p. 440-449.

139 Lee D., Dougall D. 1973. Electrophoretic variation in glutamate dehydrogenase and jther isoenzymes in wild carrot cells cultured in presence and absence of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in vitro. V. 8. N 5, p. 347-352.

140 Leech R., Kirk P. 1968). An NALP-deperent L-glutamate dehydrogenase from chloroplasts of *Vicia faba* L. *Biochem. Biophys. Res. Commun*., v.32. N4. p.685-690.

141 Lovering A., Hyde E., Searle P., White S. (2001) The structure of *Escherichia coli* nitroreductase comlexed with nicotinic acid. Three crystal forms at 1.7Å, 1.8 Å and 2.4 Å resolution. *J. Mol. Biol*. 309, 203-213.

142 Lowry O. N. et. al. Biol. chem. 1951, 193, p. 263-275

143 Mann A., Fentem P. Stewart G. 1979. Identification of two forms of glutamine synthetase in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Biochem. Biophys. Res. Commun*., v. 88, N2, p. 515-521.

144 Mason R., Holtzmann J. (1975) The role of catalytic surepoqxide formation in the O2 inhibition of nitroreductase . *Biochem. Biophys*. *Res. Commun*. 67, 1267-1274.

145 McCormick N., Feeherry F., Levinson H.(1976) Microbial transformation of 2,4,6-TNT and other nitroaromatic compounds. *Appl.Environ. Microbiol.* 31. 949-958.

146 Mckenzie E., Lees E. 1981. Clutamate dehydrogenase activity in devoloping soybean seers: isolation and aharacterization of tree froms of the enzyme.-Arch. Biochem. Biophys., v. 212, N1, p.290-297.

147 McNelly S., Hirel B. 1983. Glutamine synthetase isoforms in higher plants. *Physiologie Vegetale,* v. 21, N7, p. 761-774.

148 McNelly S., Hirel B., Gadal P., Mann A., Stewart G. 1983. Glutamine synthetase of higher plants. Evidence for a specific isoform content related to their possible physiological role and their compartmentation within the leaf. *Plant Physiol*.,v. 72, N 1, p.22-25.

149 Memaster B., Dunham V. 1981. Regulation of two fotms of glutamine synthetase of soybean hypocotils. *Plant. Sci. Lett*., v.21, N1, p. 41-50

150 Miflin B. 1974. The lpcationof nitrate reductase and other enzymes to amino acid biosinthesis in the plastids of root and leaves. *J. Plant Phsiol* . v. 54, N4, p.550-555

151 Miflin B., Habash D. 2002 The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops. J. Exp. Bot. 53: 979-987

152 Miflin B., Cullimore J. , Nitrogen assimilation in the legume- Rhizobium symbiosis: a joint andeavour// Genes involved in Microbe-Plannt Inernations. Vienna, 1984 P. 129-196)

153 Miflin B., Lea P. 1976. The parth of assimilation in the plant kingdon. *Treands in Biochemical Sciences,* v.1,p.103-106.

154 Miflin B., Lea P. 1980. Ammonia assimilation. in the Biochemistry of plants. Ed.: Miflin B.J, v.5, p. 169-202. Academic Press, New York.

155 Miflin B., Lea P. 1982. Ammonia assimilation and amino acid metabolism. In: Encyclopedia of plant physiology. Ed.:Boulter D., Partheir B. v.14, p. 5-64, Springer Verlag, Berlin.

156 Miller J.L., Best E.P.H., Larson S.L.(1997) Degradation of axplosives in grundwater at the Voluntreen Army Ammunition Plant in flow-through systems planted with aguatic and wetlend plants. Book af Abstract. Conference on Hazardous Waste Reserch, May 19-22, Kansas citi, MO:9-10.

157 Mitaishvili T., Scalla R., Ugrekhelidze D., Tsereteli B., Sadunishvili T., Kvesitadze G. *Transformation of aromatic compounds in plants grown under aseptic conditions.* Zeitsschrift fur Naturforschung 60c. 97-102, 2005.

158 Mosolov V.V., Loginova M.D., Fedurkina N.V., Benken I.I.// Plant Sci. Letters. 1976. V.7. №1. P.77-80

159 Murrey D., Kennedy I. 1980. Chenges in activities of of enzymes of nitrogen metabolism in seedcoats and cotyledons during embryo develoment in pea seeds. *J. Plant Phsiol.*v. 66. N4. p. 782-786.

160 Nagel M., Hartmann T., 1973. Glutamate dehydrogenase from Medicado saltiva L. Purification and comparative kinetic studies of the organ-specific multiple forms. Z. Naturforsch., v. 35, N5/6, p.406-415

161 Naik M.S. , Asana R.D. Effect of zinc deficiency on the synthesis of protein mineral uptake and ribonuclease activity in the cotton plant. Ind. J. Plant Physiol., 4,2 :103 1961

162 Nauen W. Hertmann T. Clutamate dehydrogenase from Risum Sativum L.Localization of the multiple forms and glutamate formation in isolated mitochondria. Planta, 1980, v. 148, N1, p.7-16

163 Naydu M.V, Walker J.C., Tomato leaf composition in relation to baqterial spot.- Phitopathology, 1961, 51(6) 368.)

164 Nemeth J., Klement Z., Farkas G.L. An enzymological study of the hipersensitive reaction induced by *Pseudomonas suringae* in tobacco leaf tissues.- ._ Phytopathol. Z., 1969, 65, 3, 267.

165 Newton W. E. Nitrogen fixation: some perspectives and prospects// Proc. 1st European Nitrogen Fixation Conference. Szeged, 1994. P.1-6

166 O'Neal D., Joy K. 1975. Pea leaf glutamine synthetase, regulatory properties. –Plant Physiol., v. 55, N 6, p. 968-974.

167 Oaks A., Hirel B. 1985. Nitrigen metabolism in roots. Annual Review of Plant Physiol., v. 36, N2, p. 345-365.

168 Oh B., Sarath G., Shea P.(2001) TNT nitroreductase in *Pseudomonas auruginosa* strain asolated from TNT-contaminated soil. *Soil. Biol. Biohem*. 33, 875-881.

169 Ohyama T., Kumazawa K, .Nitrogen assimilation in soybean nodules. –Soil Sci.Plant Nutr., 1987, v.26,N2, p.109-115

170 Okon Y., Kapulkin Y. 1986. Plant and Soil, 90, 3.

171 Oliveira I., Coruzzi G. 1999 Carbon and amino acids reciprocally modulate the expression of glutamine synthetase in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 121: 301-310.

172 Opresko D.M. (1998) Toxicity Summary for 2,4,6- trinitrotoluene. http://risk. Isd. Orn I.gov/tox/profiles/ 2,4,6- trinitrotoluene fVI.shtml.

173 Ortega J. L., Olgain B.E., et al. Subcellular localization of glutamine synthetase in Phaseolus Vulgaris nodules // Abstr. 7th intern. Congr. Nitrogen Fixation. Koln, 1988. P. 20.

174 Pahlich E. Joy K.W. Clutamate dehydrogenase from rea roots: Purification and proporties of the enzime. Can. J. Biochem.,1971, v.49N1, p. 127-138.

175 Pahlich E., Gelleri B., Kindt R. 1978. The effect of neutral salt anions on the oxidative deamination activity of plant glutamate dehydrogenase. Planta, v.138, N2, p. 161-165.

176 Pahlich E., Gerlitz Ch. , 1980. Deviation from Michaelis-menten behaviour of plant

glutamate dehydrogenase with ammonium as variable substrate. *Phytochemistry*, v.19, N1 p.11-13

177 Pak J., Knoke K. Norguera D., Fox B., Chambliss G.(2000). Transformation of 2,4,6-trinitrotoluene by purified xenobiotic reductase B from *Pseudomonas flurensces* I-C. *Appl. Environ Microbiol. 66,4742-4750.*

178 Pataraia D. Basilashvili L., Bagalishvili M., Kikvidze M., Betsiashvili M., Nutsubidze N. Influence of module bacteria and different microorganisms on soybean growth. Bulletin of the Georgian Academy of Sciences. 160, N2, 334-336, 1999.

179 PhastSystem Separation Techngue File № 111(1987), Pharmacia AB.

180 Pueppke S.G. , Freund T.G., Schulz B.C. Interaction of lectins from soybean and peanut with Rhizobia thet nodulate soybean peanut and both plants// Can. J. Mikrobiol. 1980. Vol. 26.P.1489-1497.

181 Pushkin A., Antoniuk L., Solovieva N., Shubin V., Evstidneeva Z., Kretovich W., Charednikova T., Tsuprun V., Zograf O., Kiselev N. 1985. Glutamine synthetases of pea leaf and seed cytosol. Structure and properties. *Biochem. Biophys. Acta.* V.828, N2, p. 336-350.

182 Rafii F., Selby A., Newton R., Cerniglia C. (1994) Reduction and mutagenic activiation of nitroaromatic compounds by *Mycobacterium* sp. *Appl. Environ. Mikrobiol*. 60, 4263-4267.

183 Ramires H., Delgado M., Garcia-Peregrin E1977. Some proporties of glutamate dehydrogenase from Agave americana L. leaves. *Z. Pflanzenphysiol.* Bd.84. N.2, s.109-119

184 Ratajczak L., Ratajczak W., Mazurowa N. 1977 Isoenzyme pettern of glutamate dehydrogenase a reflection of nitrogen metabolism in Lupunus albus. Acta Soc. Bot. /Pol., v.46, N2 p. 347-357

185 Rhodes D ., Sims A., Folkes B. 1980. Patvay of ammonia assimilation in illuminated Lemna minor. Phytochem., v. 19, N 3, p.357-365.

186 Richter R., Smets B.(2000) Enzymatic reduction 2,4,6- trinitrotoluene and related nitroarenes: kinetics linked to one-electron redox potentials. *Environ. Sci. Tecnvol*. 43, 3900-3906.

187 Robert P. H ., Wong P.P. Isoenzymes of glutamine synthetase in Phaseolus Vulgaris L. and Phaseolus lumanus L. Root nodules// Plant Physiol. 1986 Vol. 81. 142-148. ;

188 Robinson SA, Slade AP, Fox GG, Phillips R, Ratcliffe RG, Stewart GR 1991 The role of glutamate dehydrogenase in plant nitrogen metabolism. Plant Physiol. 95: 509-516.

189 Rudolf K. Qualitative and Enzymveräderungen nach infection von Bohnenblattern mit *Pseudomonas faseolikola* and *Uromices faseoli.* – Angew. Bot., 1971, 44, 5/6).

190 Rudolf K., Stehman M. Chenges in activiti and isozymes pattern of soluble dehidrogenases in bean leaves ofter infection with *Pseudomonas faseolikola* and *Uromices faseoli.*_ Phytopathology, 1968, 58(8), 1065.

191 Sadler R., Shaw M. 1979. Studies on Glutamate dehydrogenase from rust infexted flax cotyledons. Z. Planzenphysiol., Bd, 91, H.3, s.211-224.

192 Sadunishvili T. *Effects of light, nitrate and ammonium on bean ferredoxin- andNADH-dependent glutamate synthases*. Applied Biochemistry and Microbiology, 2, 2, 251-253, 1996.

193 Sadunishvili T.A., Gvarliani N.Z., Nutsubidze N.N. Primary assimilation of ammonia in kidney bean leaves. *Biochemistry* (Russian).3, 511-515, 1989.

194 Sadunishvilii T. Metabolic pathways of ammonium assimilation in kidney bean roots. *Fiziologiya i Biokhimia Kulturnikh Rastenii.* 2000, 32, 1, 35-40.

195 Sadunishvili, T., Gvarliani, M. Nutsubidze, N., Kvesitadze, G. *Enzymatic mechanism of ammonia excess detoxication in kidney bean.* Fresenius Environmental Bulletin, 2, 534-539, 1993.

196 Sadunishvili, T., Nutsubidze, N., Kvesitadze, G. Effect of methionine sulfoximine on nitrogen metabolism and externally supplied ammonium assimilation in Kidney bean. *Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 34, 1, 70-75, 1996

197 Saigusa M., Ohira K., Fujiwara A 1974. Glutamate dehydrogenase in higer plants. V.Purification and proporties of enzyme from turnip roots, J. Agr. Res. (Jap) v. 25. N2. p. 86-95.

198 Scheid E Ehmke A., Hartmann T. 1980. Plant NAD-deperent glutamate dehydrogenase. Purification, molekular proporties and metal ion activation of the Lemna minor amd Pisum sativum, *Z. Naturforsch*., v. 35c, N3/4. p.213-221

199 Sengupta-Gopalan C.Pitas J.W. Expression in nodule-specific glutamine synthetase genes during nodule development in soybeans // Plant Mol. Biol 1986 Vol. 7. P.189-199.

200 Sims A., Folkes B., Bussey A, 1968. Mechanisms involved in the regulation of nitrogen assimilation in microorganisms and plants. New-York Acad. Press. P.91-119.

201 Sims AP, Folkes BF 1964 A kinetic study of the assimilation of ^{15}N-ammonia and the synthesis of amino acids in an exponentially growing culture of *Candida utilis*. Proc. Roy. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 159: 479-502.

202 Snyder U.E., Kwovn T.V., Soybean utilization, 1987.

203 Sodek L., Lea P., Miflin B.1980. Distribution and proporties of a potassium deperent asparaginase isolated from developing seeds of Pisum sativum and other plants. *Plant Physiol*., v. 65, N1, p. 22-26.

204 Somerville C., Nishano S., Spain J. (1995) Purification and characteization of nitrobenzene nitroreductase from *Pseudomonas pseudoalcaligenes* JS45. *J. Bacteriol*. 177, 3837-3842.

205 Spanggord R., Mortelmans K., Griffin A., Simmon V.(1982) Mutagenicity in *Samonella typhimurium* and stucture-activity relationships of wastewater components emenating from the manufacture of trinitrotoluene. *Environ. Mutagen*. 4, 163-179.

206 Srivastava H., Sirohi G., Sengupta U. 1975. Relative distribution of glutamate dehydrogenase enzyme in germination pea nut. Ind. J. Plant Phsiol., v. 18, N1 p.26-27.

207 Stone S., Copeland L.1979. Glutamate dehydrogenase of Lupin nodules: purification and proporties. Phytochemistry, v. 18,N8, p.1273-1278.

208 Streeter J.G.Transport end metabolism of carbon and nitrogen in legume nodules// Adv. Bot. Res. 1991. Vol. 128. P. 130-187.

209 Styles, J.A.,M.F.Cross (1983) Activity of 2,4,6-TNT in vitro mammalian gene mutation assay. *Cencer Lett*. 20, 103-108.

210 Suzuki A, Knaff DB 2005 Glutamate synthase: structural, mechanistic and regulatory properties, and role in the amino acid metabolism. Photosynth. Res. 83: 191-217

211 Tadros M., Crawford A., Mateo-Sullivan A., Zhang C and Hudhes J.(2000) Toxoc affects of hydroqsilamino intermediates from microbial transformation of trinitrotoluene and dinitrotoluones on algae *Selenastrum capricornutum. Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 64,579-585.

212 Takanashi Y., Furuhashi K. 1980. Proporties of glutamate dehydrogenase purified from green tobacco callus tissue. Plant Cell Physiol., v.21, N6, p. 1067-1075.

213 Tampest D., Meers J., Brown C. 1970. Synthesis of glutamate in Aerobacter aerogenes by

hitherto unknown route. *Biochem. J.,* v. 117, N4, p.405-407.

214 Thornton-Manning J., Cempbell W., Nass B., Chen J., Fu P., Cerniglia C., Heflich R.(1989) The role of nitro reduction in the synergistic mutational response induced by mixtures of 1 – and 3- nitrobenzo[a]pyrene in *Salmonella typhymurium. Envion. Mol. Mutagen*. 13, 203-210.

215 Thurman D.A., Palin C., Laycock M.V., Isoenzymatic nature of L-glutamate dehydrogenase of higher plants. –Nature, 1965, v.207, N4993, p.193-194.

216 Tien T., Gaskins M. Hubbell D. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* end thear effect. // Appl. End Environ. Microbiol. V. 37. N5. p. 1016-1024.

217 Tobin A., Sumar N., Patel M. , Moore A., Stewart G . 1988. Development of photorespiration during chloroplast biogenesis in wheat leaves. *J. of Exp. Botany*, v.39, N 8, p.833-843.

218 Tobin A., Ridley S., Stewart G. 1985. Chenges in the activities of chloroplast and cytosolic iso-enzymes of glutamine synthetase during normal leaf growth and plastid development in weat. *Planta*,v.163, N5. p. 544-548.

219 Tsvetkova B. M., Gilmonov M.K. Activity of Clutamate dehydrogenaze in leaves of wheat under the rust infection. Works of the Kazakstan State Institute Scien. and Thechnical information. 1995 № 6217-Ka 95.

220 Vaatanen A.(1997. Spectrum of spontaneous and 2,4,6- trinitrotoluene (TNT)-induced mutations in *Samonella typhimurium* strains with different nitroreductase and *o*-acetyltransferase activities. *Mutant. Res.* 379, 185-190.

221 Van Die J. The distribution of glutamic dehydrogenase activity and α -ketoglutarate in varios parts of the tomato plants.-Acta. Bot. Necrl.,1962, v.11, N1, p.1-10

222 Varazashvili T., Zaalishvili G., Kurashvili M., Pruidse M., Gordeziani M. 2001. Participation of the plant monooxygenase system an adaptation to environmental stress. *J. Of Biological Physics and Chemistry*, 1, 38-42

223 Vezina L., Hope H., Joy K. 1987. Isoenzymes of glutamine synthetase in roots of pea and alfalfa. *Plant Physiol.,* v. 83, N1, p.58-62.

224 Wallsgrove R., Keys A., Bird I., Corneliys M., Lea P., Miflin B. 1980. The location of glutamine synthetase in leaf cells and its role in the reassimilation of ammonia released in photorespiration. *J. Exp. Botany*, v.31, N9, p. 1005-1017.

225 Watanabe M., Nishino T., Takio K., Sofuni T., Nohmi T.(1998). Purufucation and characrerization of wild-tayp and mutant “classical” nitroreductases of *Samonella typhimurium*. *J. Biol. Chem*. 273, 23922-23928.

226 Whiteway J., Koziars P., Veall J., Sandhu N., Kumar P., Hoecher B., Lembert I.(1998). Oxygen-insensitive nitroreductases: analisis of the roles of *nfs*A and *nfs*B in development of resistenses to 5-nitrofuran derivaties in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 180, 5529-5539.

227 Williams, K.W., Soderberg, L. -A carrier ampholyte for isoelectric focusing, *International Laboratory, Jan/Feb.(1979),*

228 Wolper M., Althans D., Johns D. (1973) Nitroreductase activity of mammalian liver aldehyde oxidase. *J. Pharmacol. Exp. Theor*. 185, 202-213.

229 Won W., Disalvo L., Nog J.(1976)Toxicity and mutagenicity of 2,4,6-TNT and its microbial metabolites. *Appl. Environ. Microbial*. 31, 576-580.

230 Wong P.P., Shentheram S. Binding between pole bean *(Phaseolus Vulgaris L.),* lectin and Rhizobia thet do or do not nodulate the pole bean// Can. J. Mikrobiol. 1984. Vol. 30. P. 1349-1356.

231 Yamasaki, Suzuki, 1969

232 Yamashina I., Shikata S., Egami F.(1953). Enzymatic reduction of aromatic nitro, nitroso and hydroxylamino compounds. Bul. *Chem. Soc. Jpn*. 27, 44-45.

233 Yamaya T, Oaks A, Matsumoto H 1984 Characteristics of glutamate dehydrogenase in mitochondria prepared from corn shoots. *Plant Physiol.* 76: 1009-1013.

234 Yue S. 1969. Isoenzymes of glutamate dehydrogenase in plants. *Plant. Physiol.* V. 44, N3, p. 453-457

235 Zaalishvili G., Khatisashvili G., Ugrekhelidze D., Gordeziani M., Kvesitadze G. *Plant potential for detoxification (Review).* Applied Biochemistry and Microbiology, 36, 5, 443-451, 2000.

236 Zachariah,P.K,. Juhau M.R, (1974) The role of gut flora in the reduction of aromatic nitro-grups.*Drug Metab. Dispos*. 2, 74-78.

237 Zenno S., Koike A., Kumar R., Jarayaman M., Tanokura K., Saigo(1996). Biochemical characterization of NfsA, the *Escherichia coli* major nitroreductase. *J. Bacteriol.*178, 4508-4514.

238 Zenno S., Koike A., Tanokura K., Saigo (1998). Conversion of NfsB, a minor *Escherichia*

coli nitroreductase, to a flavin reductase similar in biochemical proropties to FR-ase I, the major flavin reductase in *Vibrio fischeri*, by a single amino acid substitution. *J. Bacteriol.* 178, 4731-4733.

დისერტაციის თემაზე გამოქვეყნებული შრომების სია:

1. Kuprava N., Betsiashvili M., Sadunishvili T., Nutsubidze N. Ammonia Assimilation in Soya Seedlings of Different Varieties. Bulletin of the Georgian Academy of Sciences, 2000, vol. 162, No 3, p. 549-551.
2. Ebelashvili M., Kuprava N., Chkhikvadze K., Zaalishvili G. Influence of Nitrobenzene Different Concentrations on Ultrastructure of Maize Root Tip Cells. Bulletin of the Georgian Academy of Sciences, 2002, vol. 165, No 2, 373-376.
3. Kuprava N., Betsiashvili M., Dzamukashvili N. Sadunishvili T., and academician Nutsubidze N. Influence of Rhizobium and Free-Living Nitrogen-Fixsing Bacteria on Nitrogen Assimilation Enzymes of Soybean Plant. Bulletin of the Georgian Academy of Sciences. 2006, Vol.173 N 2, pp 348-351.
4. Sadunishvili T., Kuprava N., Aplakov V., Betsiashvili M., Zaalishvili G., Mitaishvili T., Kvesitadze E. Effect of Nitrobenzene on Ammonia Assimilation Enzymes and cell ultrastructure in Maise and Soybean. Proceedings of the Georgian Academy of Sciences, 2006, Vol.4 N 2, pp 16-22.