

AZƏRBAYCAN MİLLİ ELMLƏR AKADEMİYASI
MOLEKULYAR BİOLOGİYA VƏ BİOTEXNOLOGİYALAR İNSTİTUTU

H.Q.BABAYEV, N.M.QULİYEV, İ.M.HÜSEYNOVA,
C.Ə.ƏLİYEV

**C₃- VƏ C₄- BİTKİLƏRİN QURAQLIQ
STRESİNƏ FİZİOLOJİ-BİOKİMYƏVİ
ADAPTASIYASI**

BAKI – "ELM" – 2019

*AMEA Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar
İnstitutunun Elmi Şurasının 26 oktyabr 2018-ci il tarixli
08 sayılı qərarı ilə nəşr edilmişdir*

Elmi redaktor: b.e.d., prof., **S.Y.Süleymanov**

Rəyçilər: b.e.d., prof. **Z.M.Məmmədov**
b.e.d., prof. **G.İ.Əzizova**

H.Q.Babayev, N.M.Quliyev, İ.M.Hüseynova, C.Ə.Əliyev, C₃- və C₄- bitkilərin quraqlıq stresinə fizioloji-biokimyəvi adaptasiyası. Bakı: Elm, 2019. – 248 s.

İSBN 978-9952-523-10-2

Kitabda bitkilərdə quraqlıq və digər abiotik stres amillərinin təsirinə qarşı yaranan biokimyəvi adaptasiyanın öyrənilməsinə dair geniş orijinal materiallar və ədəbiyyat məlumatları ümumiləşdirilmişdir. Əsas diqqət fotosintez mexanizmlərinə görə fərqlənən ali bitkilərin toxumalarında və onların subhüceyrə fraksiyalarında stres zamanı karbonun və malatın metabolizmində iştirak edən fermentlərin aktivliklərinin subhüceyrə lokalizasiyasının, izoferment spektrlərinin, aktivliklərinin aktivator, inhibitor və bəzi aralıq metabolitlərlə tənzimlənməsinin, fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinin dəyişməsinin öyrənilməsinə yönəldilmişdir. Fermentlərin və köklərdə proton nasoslarının aktivliklərinin dəyişməsi müqayisəli təhlil olunmuşdur.

Kitab biokimyə bitki fiziologiyası, , enzimologiya, eləcə də fotosintez sahəsində tədqiqat aparən elmi işçilər üçün nəzərdə tutulmuşdur. Kitabdən, həmçinin uyğun ixtisaslar üzrə təhsil alan ali məktəb tələbələri və müəllimlər də istifadə edə bilərlər.

GİRİŞ

Qloballaşan dünyada əhalinin sürətli artımı, biomüxtəlifliyin azalması, kənd təsərrüfatı üçün əlverişli və məhsuldar torpaq sahələrinin məhdudlaşması insanların qidaya olan tələbatının ödənilməsinə ciddi təhlükə yaradır [Bhutta, 2006; Khan et al., 2010]. FAO-nun (Food and Agriculture Organization of the United Nations - Birləşmiş Millətlər Təşkilatının Ərzaq və Kənd Təsərrüfatı Təşkilatı) proqnozuna görə, beynəlxalq miqyasda baş verən urbanizasiya və sənayeləşmə, quraqlıq və torpaqların getdikcə şoranlaşması dünyanın bir çox regionlarında əkin sahələrinin ~50% azalmasına gətirib çıxaracaqdır ki, bu da kənd təsərrüfatı məhsullarına olan tələbatın indiki səviyyəsinin ~50% artırılmasını tələb edir.

Müəyyən olunmuşdur ki, dünyada əkin üçün yararlı olan torpaqların təqribən 20%-i şoranlaşmışdır [Кафи, 2003]. Azərbaycanda – təxmini hesablamalara görə, 2002-ci ildə respublikamızın düzənlik torpaqlarının 521,7 min hektar ərazisi şoranlaşmış vəziyyətdə olmuş [Əzizov, 2002], 2007-ci ildə bu göstərici 661,9 min hektaradək artaraq respublikamızın ümumi ərazisinin 46,6%-ni təşkil etmişdir [Məmmədov, 2007]. Azərbaycan ərazisinin təqribən 47-51%-i quraq və şoran torpaqlardan ibarət olduğundan, bu problem bizim ölkəmiz üçün də aktualdır.

Qeyd etmək lazımdır ki, beynəlxalq miqyasda insanların sürətli artımı bir çox ekoloji problemlərin yaranmasına səbəb olmuşdur. Buna görə də əhalinin kəndlərdən şəhərlərə miqrasiyası, qlobal istiləşmə və ekstremal hava şəraiti təbii ehtiyatların azalmasına gətirib çıxarır. Bütün bunların fonunda dünyada ekoloji təmiz qida məhsullarına, təmiz havaya, torpağa, suya və ətraf mühitin qorunmasına olan tələbat getdikcə artır. Bəzi məlumatlara görə, dünya əhalisini ərzaq məhsulları ilə təmin etmək üçün 2030-cu ilə kimi ərzaq istehsalı 40%, 2050-ci ilə kimi isə 70% artırılmalıdır [Valkoun, 2001]. Bundan başqa, 2050-ci ilə qədər dünyada enerjiyə və təmiz suya olan tələbatın iki dəfədən çox artacağı proqnozlaşdırılır. Həmçinin biotik və abiotik amillərin hava-torpaq-bitki örtüyünə zərərli təsiri nəticəsində ekoloji tarazlığın pozulması [Ndayishimiye et al., 2012], bütün dünyada ekoloji vəziyyətin ağırlaşmasına səbəb olur. Təbii iqlim şəraiti ilə əlaqədar yaz, yay fəsilərində temperaturun və duzluluğun artması, həmçinin su çatışmazlığı torpağın qurumasına səbəb olur, nəticədə mədəni bitkilərin məhsuldarlığı normal su təminatı olan bitkilərlə müqayisədə 30-35% azalır [Boyer, 1982]. Bununla əlaqədar olaraq, alimlər yaxın gələcəkdə baş verəcək problemlərin davamlı həlli üçün xarici mühitin əlverişsiz şəraitində yaşamaq və inkişaf etmək imkanlarına malik olan yüksək məhsuldarlıqlı mədəni bitki sortlarının seleksiyasını vacib şərtlərdən biri hesab edirlər [Khan et al., 2010; FAO,

2007, 2011, 2012; Chaves et al., 2002, 2003; Galvani, 2007; Passioura, 2007; Rampino, 2006; Mifflin, 2000].

Fotosintez stres amillərin təsirinə qarşı həssas funksional bioloji sistem olduğundan, onun fizioloji-biokimyəvi mexanizmlərinin öyrənilməsinə maraq son zamanlar daha da artmışdır. Məhz stres amillərin bitkilərə uzunmüddətli təsiri nəticəsində təkamül prosesində təbiətdə müxtəlif fotosintez mexanizminə malik bitkilər əmələ gəlmişdir. Bu nöqteyi-nəzərdən qeyd etmək lazımdır ki, fotosintezin C₄-yolu C₃-yolun isti və quraqlıq bitkiləri üçün xarakterik olan kompleks adaptasiya formasıdır. Müəyyən olunmuşdur ki, C₄-bitkilərin assimilyasiyaedici toxumalarında – mezofil (MH) və örtük topa hüceyrələrində (ÖTH) lokalizasiyasına görə bir-birindən fərqlənən 2 tip xloroplast mövcuddur və C₄-bitkilərdə bir-birindən məkanca fərqlənən iki mexanizm üzrə fotosintez baş verir. C₄-bitki yarpaqlarının MH-də lokalizasiya olunan fermentləri biokimyəvi nasos rolunu oynayaraq, ÖTH-nin karboksilləşmə mərkəzlərində CO₂-nin qatılığını atmosferlə müqayisədə təqribən 10 dəfəyədək artırır. Bunun nəticəsində ribulozo-bis-fosfatkarboksilaza (RBFK) oksigenaza aktivliyi və fototənəffüs zəifləyir ki, bu da öz növbəsində CO₂-nin daha effektiv assimilyasiyasına və C₄-fotosintezin ekstremal şəraitdə daha yüksək fotosintez aktivliyinə səbəb olur [Эдвардс, Уокер, 1985; Gardestrom, Wigge, 1988].

Kornikin apardığı tədqiqatlar sübut edir ki, quraqlıq zamanı metabolizmdə baş verən dəyişikliklərin özü fotosintez aparatının quraqlığa davamlılığının yaranmasına səbəb olmuşdur [Cornic, 2000].

Quraqlıq stresi bitkilərin inkişafına və məhsuldarlığına ciddi təsir edən ən geniş yayılmış ətraf mühit amillərindən biri olmaqla, bitkilərdə bir çox fizioloji, biokimyəvi və molekulyar dəyişikliklərin yaranmasına səbəb olur [Rampino et al., 2006]. Quraqlığın təsirindən Calvin-Benson dövrünü fermentlərinin aktivliyinin, izoferment tərkibinin, eləcə də fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinin dəyişdiyi müəyyən olunmuşdur [Flexas, Medrano, 2002].

Bitkilərin quraqlığa davamlılığı, onların su stresi şəraitində yarpaqlarda saxladığı suyun nisbi miqdarından da asılıdır. Stres zamanı yarpaqlarında daha çox su saxlayan növlər quraqlığa davamlı hesab olunurlar. Məlumdur ki, yüksək dərəcədə şoranlıq mədəni bitkilərin məhsuldarlığını azaldır [Ершов, 2006], bəzən də tamamilə məhv olmasına səbəb olur [Гамбарова, Асадова, 2010]. Aparılan tədqiqatların nəticələri göstərir ki, bitkilər ontogenin ilkin dövrlərində quraqlığa və şoranlığa daha çox davamsız olurlar [Weiping et al., 2010].

Müəyyən olunmuşdur ki, ətraf mühitin stres amilləri bitkilərə daha çox fotosintez və fototənəffüs proseslərini inhibirləşdirməklə təsir göstərir. Bir çox tədqiqat işlərində stres zamanı fotosintezin inhibirləşməsinin əsas səbəbi kimi, elektronların qeyri-tsiklik yolla ötürülməsi reaksiyaları ilə CO₂-nin fiksasiyasının ferment sistemləri arasındakı funksional əlaqənin po-

zulması göstərilir [Murata et al., 2007]. Məlumdur ki, Kalvin-Benson dövrünü CO₂ assimilyasiyasının birinci yolu olub, fotosintezin işıq mərhələsinin son məhsulları olan ATF və NADFH-ni sintezi ilə nəticələnir. Kalvin-Benson dövrünü fermentlərinin əksəriyyətinin aktivliyi stromal pH-ın, intermediatların və bəzi aktivatorların qatılığının dəyişməsinə qarşı çox həssasdır. Ətraf mühitin abiotik stres amilləri fotosintez prosesinə maddələr mübadiləsinə dəyişməklə və fiksasiya üçün tələb olunan CO₂-nin karboksilləşmə mərkəzlərində miqdarını məhdudlaşdırmaqla təsir edirlər. Bu prosesin öyrənilməsi müasir dövrdə də öz aktuallığını saxlamışdır [Flexas, Medrano, 2002; Ghannoum et al., 2003; Thimmanaik et al., 2002; Chaves, Oliveira, 2004; Pinheiro, Chaves, 2011; Covshof, Hibberd, 2012].

Məlumdur ki, canlı orqanizmlərdə maddələr mübadiləsinin əsasını təşkil edən biokimyəvi reaksiyalar fermentativ yolla baş verir [Stitt et al., 2002]. Fermentlərin aktivliyi, gen ekspressiyası və zülalının miqdarı bitkinin yaşından, inkişaf mərhələsindən, metabolik yollardan və ətraf mühitin ekstremal amillərinin təsirindən asılı olaraq tənzim olunurlar [Stitt, Gibon, 2014]. Metabolik proseslərin tənzimlənmə mexanizmlərinin öyrənilməsi bitkilərin stresə qarşı adaptasiyasının biokimyəvi mexanizmlərinin dərk olunması üçün şərait yaradır. Bitki hüceyrələrində metabolik yolları əlaqələndirən üzvi turşulardan malat, sitrat, suksinat və digərləri mühüm rol oynayırlar. Bu birləşmələr, əsasən, oksidləşdirici metabolik yol olan Krebs dövrünün substratları olub, digər biosintetik və energetik proseslərin formalaşmasında iştirak edirlər. Həmin intermediatların miqdarının dəyişmə dinamikası onların çevrilməsini həyata keçirən fermentlərin aktivliyi, katalitik xüsusiyyətləri, izoferment tərkibi və subhüceyrə lokalizasiyası ilə müəyyən edilir [Takahara et al., 2010; Lehninger et al., 2008; Krishnan et al., 2008; Пине́йру, 1991]. Bu sahədə malatdehidrogenazaların (MDH) və malik enzimlərin (ME) xüsusi rol oynadığını nəzərə alaraq onların aktivliyinin, izoferment spektrinin və digər xassələrinin bitkilərin aktiv inkişaf mərhələlərində tədqiq olunması elmi nöqteyi-nəzərindən çox əhəmiyyətlidir [Епринцев и др., 1995; Епринцев и др., 2011].

Müəyyən olunmuşdur ki, orqanizmin mühitin dəyişən şəraitinə cavab reaksiyası hüceyrənin konstruktiv və energetik mübadiləsində mühüm rol oynayan malatdehidrogenaza (MDH) sistemi fermentlərinin yeni izoformalarının əmələ gəlməsi ilə əlaqədar ola bilər [Сатар и др., 2010; Епринцев и др., 1996].

Bitkilərdə metabolik proseslərin tənzimlənməsində malat mərkəzi yerlərdən birini tutur və hüceyrə kompartmentlərində qeyri-bərabər paylanmışdır [Schulze, 2002; Kim, 2004]. Bu intermediatın hüceyrə daxilində qatılığının dəyişməsi onun biokatalitik çevrilməsində iştirak edən fermentlərin aktivliyinin, katalitik xassələrinin, izoferment tərkibinin və subhüceyrə locali-

zasiyasının əsasında baş verir. CO₂-nin ikiəsaslı üzvi turşu olan malat formasında toplanması və onun dekar-boksilləşməsi MDH fermentlərinin müxtəlif izoformaları tərəfindən həyata keçirilir. Bu fermentlər bitkilər aləmində geniş yayılmaqla mürəkkəb izoferment spesifikliyinə malikdirlər. Bitki hüceyrəsi üçün səciyyəvi olan mürəkkəb kompartmentləşmə və alternativ metabolik yolların mövcudluğu, MDH fermentlərinin stresin təsirindən asılı olaraq yüksək labillik göstərməklə bitkinin inkişaf mərhələlərindən və stresin təsir müddətindən asılı olaraq öz aktivliklərini, izoformalarının sayını və subhüceyrə lokalizasiyasını şəraitə uyğun dəyişməklə bitkilərin stressə adaptasiya prosesində iştirak edirlər. Ali çiçəkli bitkilərdə MDH sistemi fermentləri özlərini ətraf mühitin dəyişməsinə, orqanizmin tələbatına və fizioloji vəziyyətinə dəqiq reaksiya vermək imkanları olan zülalların dinamik tarazlığı kimi göstərilir [Пине́йру и др., 1991].

Malatın metabolizmində ikisi oksidoreduktaza – NAD-, NADP-malat-dehidrogenaza (NAD-MDH, NADP-MDH), digər ikisi isə dekarboksilaza – NAD- və NADP-malik enzim (NAD-ME, NADP-ME) aktivliyinə malik olan dörd ferment iştirak edir.

MDH fermentlərinə adaptivlik xassəsi verən amillərdən biri də onların polifunksionallığıdır. Belə ki, NAD-MDH mitoxondrilərdə Krebs dövrəsinə, sitozol və peroksisomlarda malat-aspartat məkik mexanizmində, qlüoksosomlarda isə yağ turşularının β-oksidləşməsində iştirak edir [Minarik et al., 2002; Gietl, 1992; Miller et al., 1998; Beeler et al., 2014; Selinski et al., 2014; Zhijian Chen et al., 2015]. NADP-MDH xloroplastlarda lokalizasiya olunmaqla NADPH-ni köməkliyi ilə oksalasetatın malata çevrilməsi reaksiyasını kataliz edir. O reduksiya olunmuş ekvivalentlərin sitozol və xloroplastların stroması arasındakı tarazlığının saxlanılmasında mühüm rol oynayır [Hatch, 1977; Эдвардс, Уокер, 1986]. C₄-bitkilərdə yüksək aktivlik göstərən NADP-MDH C₃-bitkilərin yarpaqlarında da yüksək aktivliyə malikdir və onun C₃-bitkilərdə rolu hələ tam aydın deyil [Ferte et al., 1986]. Malik enzimlər isə NAD⁺ və NADP⁺ kofermentlərinin iştirakı ilə malatın dekarboksilləşməsi reaksiyasını kataliz edirlər [Drincovich et al., 2001; Honda et al., 2000]. Bu funksiyalarına görə onlar kəskin stres şəraitində fotosintezin CO₂ ilə təmin olunmasına və intensivliyinin yüksək səviyyədə saxlanmasına kömək etmiş olurlar. Malik enzimlər, eyni zamanda bitkilərin stresin təsirindən mühafizə olunmasında [Pinto et al., 1999; Casati et al., 1999], yağ turşularının biosintezində [Shearer et al., 2004] və sitozolun pH-nın tənzimində də iştirak edirlər [Edwards, Andreo, 1992; Sakano, 1998].

Bitkilərdə stresin təsirinə qarşı davamlılığın yaranmasında bitki metabolizmi üçün həyati əhəmiyyət kəsb edən, fotosintezin substratı, tənəffüsün isə son məhsullarından biri olan CO₂-nin ağızcıqlardan diffuziyasını və karboksilləşmə mərkəzlərinə nəqlini həyata keçirən karboanhidraza (KA) fer-

mentinin böyük əhəmiyyəti vardır. Bu ferment bitkilərdə CO₂-nin hidratasiyasının dönər reaksiyasını kataliz etməklə bitkilərin fotosintez fəaliyyətində mühüm rol oynayır [Алиев, Гулиев, 1990; Guliev et al., 2003; Алиев и др., 1986]. C₃-bitkilərdə karboksilləşdirici ferment Rubiskodur və o ribuloza-1,5-bisfosfatı (RuBF) diffuziya olunan CO₂ ilə karboksilləşdirməklə fotosintezin növbəti reaksiyaları üçün zəmin yaradır [Heineke et al., 2001]. C₃-bitkilərdən fərqli olaraq, C₄- və KAM (Crassulacean Acid Metabolism) bitkilərdə əsas karboksilləşdirici ferment fosfoenolpiruvatkarboksilazadır (FEPK). FEPK bitkilərdə azot və karbon metabolizmində vacib rol oynayaraq fosfoenolpiruvatı (FEP) oksalasetata çevirir [Chollet et al., 1996; Vidal, Chollet, 1997]. O fotosintezin C₄- və KAM yoluna aid bitkilərdə karbonun fotosintetik assimilyasiyasının ilkin reaksiyasını kataliz edir və C₄-bitkilərdə MH-nin sitozolunda lokalizasiya olunmuşdur.

Qeyd etmək lazımdır ki, fərqli fotosintez mexanizmlərinə malik olan bitkilərin (C₃ və C₄) inkişafının aktiv mərhələlərində, toxuma və subhüceyrə lokalizasiyasına görə bir-birindən fərqlənən, amma oxşar fizioloji funksiyalara malik olan KA, Rubisko və FEPK fermentlərinin aktivliyinin quraqlığın təsirindən dəyişməsi bitkilərdə stresə qarşı davamlılıq mexanizminin öyrənilməsində mühüm addım ola bilər. Bu baxımdan, dənli bitkilərin məhsuldarlıq potensialının artırılması, təkcə gübrələrdən istifadə olunması ilə deyil, həm də fotosintetik potensialın artırılması ilə mümkün ola bilər [Surridge, 2002; Reynolds et al., 2009].

Beləliklə, bitkilərin fotosintezə malik yerüstü orqanları ilə fotosintezdən məhrum yeraltı orqanları arasında metabolizmdə əlaqələndirilmiş funksiyaların və mexanizmlərin rolu ilə əlaqədar olaraq C₃- və C₄-bitkilərdə stres amillərinin təsirinə qarşı müdafiə reaksiyalarının yaranması haqqında çox az məlumat vardır və bu sahədə tədqiqat işləri davam etdirilməlidir [Liu et al., 2015]. Hazırda ekoloji böhranın labüd olduğu və iqlim amillərinin kəskinləşdiyi şəraitdə bitkilərdə yüksək temperatur, quraqlıq, yüksək duz qatılığı kimi stres amillərinin təsirinə qarşı davamlılığın artırılması mühüm elmi və praktik əhəmiyyət kəsb edir.

Kök sistemində əmici tellər vasitəsilə sorulan suyun ümumi miqdarı yarpaqların səthi ilə buxarlandırılan suyun miqdarından az olduqda su stressi baş verir. Bu zaman bitkidə suyun nisbi miqdarı, su potensialı və hüceyrənin turqoru aşağı düşür [Ludlow, 1980]. Hüceyrədə qeyri-üzvi ionların və başqa həllolan maddələrin miqdarı artır. Su stressinə qarşı bitkilərin ilkin cavabı Çavesin müəyyən etdiyi kimi [Chaves et al., 2002], ağızcıqların bağlanmasıdır ki, bu da öz növbəsində yarpaqlar tərəfindən udulan CO₂-nin miqdarının azalmasına gətirib çıxarır [Chaves, 1991; Cornic, Massacci, 1996; Schulze et al., 1986; Maroco et al., 1997]. Bəzi alimlər karbonun fotosintetik assimilyasiyasının zəifləməsini Calvin dövrəsinin inhibirləşməsi ilə izah edirlər

[Lawlor, Uprety, 1991; Gimenez et al., 1992]. Bir çox tədqiqatçılar isə onu ATF-in sintezinin və C₃-bitkilərdə CO₂-nin ilkin akseptoru olan RuBF-in regenerasiyasının zəifləməsi ilə əlaqələndirirlər [Tezara et al., 1999].

Beləliklə, bu sahədə dünya alimləri tərəfindən alınan nəticələrin analizi zamanı bitkilərdə stres amillərin təsirinə qarşı adaptiv reaksiyaların yaranmasında bir-biri ilə ziddiyyət təşkil edən və mübahisə doğuran fikirlərin olduğunu görürük. Belə ki, su stresi bitkilərdə metabolizmi dəyişdirərək fotosintezi və inkişafı zəiflətməklə, ekosistemə və kənd təsərrüfatına mənfi təsir göstərir.

I FƏSİL

STRES VƏ ADAPTASIYA

STRES AMİLLƏRİ HAQQINDA ÜMUMİ MƏLUMAT

“Stres” termini 1936-cı ildə məşhur alim Hans Selye tərəfindən elmə gətirilmişdir. H.Selye sonrakı fəaliyyətində bu termini daha da inkişaf etdirərək stres nəzəriyyəsini yaratmışdır [Selye, 1950, 1955]. Stres termini ingilis dilindən tərcümədə “gərginlik” mənasını verir. Bu termin sonralar canlılar haqqında olan bütün elmlərdə, o cümlədən tibb, bitkilərin fiziologiyası və biokimyası elmlərində indiyə qədər geniş istifadə edilir. Təbiətdə stres, adətən, stres amilləri tərəfindən yaradılır və müxtəlif formaları vardır. Məsələn, su, duz, temperatur, iqlim və hətta ekoloji streslər. Bioloji sistemlərə təsir edərək, onlarda stres yaradan amilləri stressor adlandırırırlar. Stres isə orqanizmin stressorlara cavab reaksiyası formalaşdıran zaman düşdüyü fizioloji vəziyyətdir. Orqanizmlərin stressorun təsirinə qarşı reaksiyaları, bir sıra hallarda patoloji olur, prinsipcə adaptiv əhəmiyyət kəsb edirlər. Odur ki, Selye bunu “ümumi adaptasiya sindromu” adlandırmışdır. Daha sonralar o, “stres” terminini “ümumi adaptasiya sindromu” ilə eyniləşdirərək sinonim terminlər kimi istifadə etmişdir [Sandor et al., 2012].

“Stres” termini fitofiziologiyada iki müxtəlif aspektdən işlədilir. Əgər “stres” qıcıqlandırıcının miqdarı tərəfini əks etdirsə, onda, “stres” “qarşılıqlı təsir” sözünün sinonimi kimi istifadə olunur. Digər hallarda (məsələn, su, duz, oksidləşdirici stres və s.) “stres” dedikdə, spesifik və qeyri-spesifik dəyişkənliklər yaradan bütöv cavab kompleksləri başa düşülür. Qeyd etmək lazımdır ki, istənilən ekoloji amilləri yox, güclü təsir göstərərək canlı orqanizmlərdə dağılma və hətta ölümə gətirib çıxaran xarici mühit amillərini “stressor” adlandırırırlar [Ипатова, 2005].

Quraqlıq, şoranlıq, yüksək işıq intensivliyi, yuxarı və aşağı temperatur, radiasiya kimi abiotik stres amilləri canlı orqanizmlərdə, o cümlədən fərqli fotosintez mexanizminə malik olan bitkilərdə müxtəlif dəyişkənliklər əmələ gətirirlər [Lizana et al., 2006; Khan et al., 2015]. Stres amilləri bitkilərin həyat fəaliyyətinə mənfi təsir etməklə onların inkişafını məhdudlaşdırır və məhsuldarlığını aşağı salır. Məlum olduğu kimi, mədəni bitkilərin yabani əcdadları vaxtilə abiotik stressə qarşı daha yüksək tolerantlıq göstərmişlər [Bohnert et al., 1995; Jafarov et al. 2016].

Bəzi məlumatlara görə Yer üzərində istifadə olunan torpaq sahələrinin stres amillərinə görə təsnifatında, təbii stres amili olan quraqlıq 26%-dən çox sahəni əhatə edir. Bunun ardınca 20%-lə duzluluq stressi və 15%-lə so-

yuqluq və ya şaxta stresləri gəlir. Digər streslər isə cəmi 29% təşkil edir. Yalnız 10%-lik bir sahə hər hansı bir stresin təsirinə məruz qalmır [Blum, 1986].

Bitkilərin xarici mühit amillərinə qarşı reaksiyasını, adətən üç fazaya ayırırlar: birinci faza – *ilkin induktiv stres reaksiyası* (Selye bunu ”həyəcan signalı” adlandırmışdır); ikinci faza – *adaptasiya fazası* (rezistent faza); üçüncü faza isə – *tükənmə fazası*.

Birinci fazada orqanizmdə baş verən fizioloji və biokimyəvi proseslərdə mühüm kənarlanmalar yaranır, zədələnmə simptomları müşahidə edilir və müdafiə reaksiyaları formalaşır. Bu mərhələdə orqanizm öz müdafiə gücünü səfərbər etsə də stressora qarşı rezistentlik normadan aşağı düşür. Müdafiə reaksiyaları, əsasən, zədələnmələri aradan qaldırmaq – neytrallaşdırmaq məqsədi ilə baş verir. Əgər stressorun təsiri həddən artıq güclü olarsa, orqanizm elə birinci fazada məhv olur. Bundan fərqli olaraq, belə bir hal baş verməzsə, onda reaksiya ikinci fazaya keçir. Bitkilərdə stresin birinci fazasında hüceyrə səviyyəsində baş verən proseslərin kənarlaşmasına membran keçiriciliyinin artmasını, H⁺-ATP faza aktivliyinin inhibirləşməsini, sitozolik pH-ın azalmasını, zülal sintezinin zəifləməsini və struktur pozulmalarını, transkripsiyanın tormozlanmasını, sitoplazmanın özlülüyünün azalmasını, fotosintezin intensivliyinin zəifləməsini, stresin təsirinin ilk anlarında tənəffüsün artmasını, sonra isə inhibirləşməsini, sərbəst radikal reaksiyaların sürətlənməsini və s. göstərmək olar. Bitkilərdə bu fazada etilen və boy hormonlarının sintezinin intensivliyi artır. Auksin, sitokinin, hibberellin kimi boy hormonlarının miqdarı azalır, hüceyrələrin bölünməsi və böyüməsi tormozlanır [Mancini et al, 2006; Алексина и др., 2005; Чиркова, 2002].

İkinci fazada orqanizm yeni şəraitə uyğunlaşa bilmədikdə zədələnmələr getdikcə güclənir. Stressor yavaş-yavaş təsir etdikdə orqanizm asanlıqla stresə adaptasiya olunur. Bu fazada bitkilərin adaptasiyası zamanı hidrolitik və katabolik reaksiyaların aktivliyi aşağı düşür, sintez prosesləri güclənir. Hüceyrələrdə suyun miqdarı artır, fitoaleksinlərin sintezi intensivləşir və bitkilər infeksiya streslərə yaxşı uyğunlaşır. Membranlarda ion mübadiləsi stabilləşir, lipidlərin peroksid oksidləşməsi aşağı düşür, mitoxondri və xloroplastların aktivliyi yüksəlir, oksigenin aktiv formalarının əmələ gəlməsi tormozlanır. Adaptasiya zamanı bitkilərdə generativ orqanların miqdarı azalır, yaşlı orqanlar öz enerjisini cavan orqanlara ötürərək onların inkişafını təmin edir [Селье, 1972; Тарчевский, 1993].

Stresin üçüncü fazasında hidrolitik proseslərin güclənməsi nəticəsində hüceyrənin stresə davamlılığının itməsi, energetik və sintetik reaksiyaların zəifləməsi, homeostazın pozulması baş verir. Stresin yaratdığı gərginlik orqanizmin müdafiə potensialından artıq olarsa bitki məhv olur. Bu fazada bitki normal inkişaf şəraitinə qayıtdıqda reparasiya nəticəsində zədələnmələr

bərpa olunmağa başlayır. Bitkilərin ontogenezində adaptasiya prosesləri da-
im baş verir [Əliyev və b., 2014].

Müəyyən olunmuşdur ki, stressorlar, adətən tək-tək deyil, kompleks
halında təsir edirlər. Məsələn, yüksək temperatur, intensiv insolyasiya (tor-
paq səthinin şüalanması), quraqlıq, şoranlıq, subasmalar zamanı oksigen ça-
tışmazlığı və həm də intoksikasiya baş verir [Alexieva et al., 2003].

İşığın intensivliyinin dəyişməsi nəticəsində fotosintez, tənəffüs və ya
transpirasiyanın sürətinin dəyişməsinə, bitkilərin çiçəkləməsi, meyvə vermə-
si və qocalması zamanı baş verən metabolik sürüşmələri stres adlandırmaq
düzgün olmazdı. Çünki onlar metabolizmin adi ritmik dəyişmələridir [Əli-
yev və b., 2014].

Belə demək olar ki, stres-reaksiyalar bitkilərin şəraitə adaptasiya olun-
masında mühüm rol oynayırlar. Bitkilərin dəyişən şəraitə uyğunlaşması bio-
kimyəvi və fizioloji proseslərin dəyişməsinə tələb edir. Bu dəyişmələr qeyri-
spesifik və spesifik ola bilər. Bitkilərin müxtəlif növ stressorlara qarşı eyni
tip reaksiyaları və ya müxtəlif növ bitkilərin eyni stressora eyni reaksiyası
qeyri-spesifik reaksiyalardır. Spesifik reaksiyalar isə stressorun təbiətindən
və bitkilərin genotipindən asılı olan cavab reaksiyalarıdır. Adaptasiya reak-
siyalarının qeyri-spesifik və ya spesifik olmasını – birincisi, bitkilərin müx-
təlif stressorlara; ikincisi, müxtəlif bitkilərin eyni stressora reaksiyasını mü-
əyyən etməklə aydınlaşdırmaq olur. Bitki hüceyrələrinin stressorlara qarşı
qeyri-spesifik reaksiyalarına xüsusi növ zülalların sintez olunmasını misal
göstərmək olar. Müəyyən olunmuşdur ki, bitkilərdə baş verən streslər zama-
nı bir sıra stres zülalları sintez olunur [Mancini et al, 2006; Əliyev və b.,
2014]. Stres zülalları, əsasən, yüksək və aşağı molekulyar çəkili olurlar. Stres
zülallarının əsas funksiyasını, bitkilərdə onların sintezini dayandırdıqdan
sonra müəyyən etmək olar. Onu qeyd etmək lazımdır ki, stressorun təsiri da-
yanan kimi stres zülallarının sintezi dayanır və hüceyrə üçün normal halda
lazım olan zülalların sintezi yenidən intensivləşir. Digər tərəfdən genlərin
strukturunda dəyişiklik baş verən zaman bitkilər bu və ya digər stressora
qarşı davamlılığını itirir [Mancini et al, 2006; Huseynova et al., 2016].

Bitkilər müxtəlif yollarla qeyri-normal şəraitin təsirindən “qaça” bilir-
lər. Məsələn, bəzi bitkilər quraqlıqdan qorunmaq üçün orqanlarında su ehti-
yatı toplayır (sukkulentlər), bəziləri vegetasiya dövrünü qısaldır (efemerlər)
və s. Bitkilərdə bioloji xüsusiyyətlərindən asılı olaraq xarici amillərin təsiri
zamanı fizioloji və struktur dəyişikliklərin sürəti fərqlənir. Məsələn, stres-
sorların təsirinə davamlı olan bitkilərdə davamsızlara nisbətən hüceyrə
membranlarının yüksək stabilliyi müşahidə olunur. Qenkel [Генкель, 1988].
qeyd edir ki, bitkilərdə bir çox stres amillərinə qarşı birgə davamlılıq möv-
cuddur. O, göstərir ki, ilkin istilik şoku bitkilərin suya, duza və ağır metallar-
a qarşı davamlılığını artırır. Abiotik amillərdən – su çatışmazlığı, şoranlaş-

ma və temperatur bitkilər üçün ən arzuolunmaz stressor hesab edilirlər [Behra et al., 2002; Əliyev və b. 2014].

Son zamanlar müəyyən olunmuşdur ki, bitkilərdə stressorun lokal təsiri zamanı yaranan stres signalları distansion elektrik signalları vasitəsilə digər sahələrə ötürülə bilirlər. Bu signallar təsir potensialı və ya zədələnmələr zamanı güclü stres hallarında yaranan variabel potensiallar formasında olur, orqan və toxumaların müqavimətini artırır. Distansion elektrik signallarını real stressor kimi qeyri-spesifik effektlər (membran keçiriciliyinin dəyişməsi, tənəffüsün güclənməsi və s.) yaradan psevdostressor adlandırmaq olar.

Müxtəlif orqanizmlər xarici mühitin dəyişməsinə müxtəlif cür cavab verirlər. Onlardan bəziləri mühitin dəyişən şəraitinə zəif reaksiya verdikləri halda, digərləri xarici mühitin güclü təsirini asanlıqla ötürürlər [Беселова и др., 1993]. Orqanizmlərin davamlılıq səviyyəsi xarici amillərin təsiri altında dəyişilə bilər. O toxumun cücərməsi dövründə aşağı olur, vegetativ orqanların inkişafı dövründə artır, generativ orqanların inkişafı dövründə aşağı enir və sporogenez dövründə minimum səviyyəyə düşür. Orqanizmlər anabioz vəziyyətində maksimum davamlı olurlar [Chaves et al., 2009].

Qeyd etmək lazımdır ki, müxtəlif stressorlara qarşı bitkilərin hüceyrə səviyyəsində cavab reaksiyalarının təbiəti tam aydın deyil. Elmi təcrübələrin nəticələrinə əsaslanaraq onu demək olar ki, stressorlara qarşı cavab reaksiyalarında hüceyrə membranları mühüm rol oynayır.

QURAQLIĞIN BİTKİLƏRƏ TƏSİRİNİN FİZİOLOJİ- BİOKİMYƏVİ ƏSASLARI

Ali bitkilərdə fizioloji stres yaradan mühüm ətraf mühit amillərindən biri su çatışmazlığıdır. Bitkilərin inkişafı, böyüməsi, məhsuldarlığı suyun miqdarından birbaşa asılıdır. Su qıtlığı, quraqlıq bitkilərin məhsuldarlığını və məhsulun keyfiyyətini limitləşdirən vacib faktorlardır [Chandler, Bartels, 2003]. Su qıtlığı bitkinin tərkibində olan maksimal suyun azalmasının faizlə verilmiş miqdarı ilə ifadə olunur. Onun miqdarı 10-25% olduqda məqbul qıtlıq sayılır, 40% isə bitki üçün ölümcül miqdar hesab olunur. 5-10%-li qıtlıqda, hətə də bitkilərin əksəriyyətində metabolizmin intensivliyi yüksək olur. Bu hallarda ağzıçuqların tam açıq vəziyyətində transpirasiya yüksək olur. Fotosintez və digər proseslər normal baş verir. Suyun miqdarı 20-30% azaldıqda, artıq toxumalarda su qıtlığı müşahidə olunur [Chandler, Bartels, 2003].

Su qıtlığının yaranmasına quraqlıq, yüksək temperatur, şoranlıq, aşağı temperatur, şaxta və külək səbəb ola bilər. Su qıtlığına əsas səbəb aramsız davam edən quraqlıqdır. Quraqlıq stressi, adətən digər streslərlə, duzluluq,

soyuqluq, istilik, turşuluq və qələvililik stresləri ilə müşayiət olunur [Glom-bitza et al., 2004; Shao et al., 2005]. Quraqlığın torpaq və hava forması vardır. Hava, yaxud atmosfer quraqlığı temperaturun yüksəlməsi və havada nəmliyin normadan aşağı düşməsi ilə xarakterizə olunur ki, bu da bitkilərdə transpirasiyanı sürətləndirir. Atmosfer quraqlığının uzun müddət davam etməsi nəticəsində torpaq quraqlığı əmələ gəlir [Əliyev və b., 2014].

Müəyyən olunmuşdur ki, Yer kürəsində quraqlığın əmələ gəlməsi müxtəlif səbəblərdən baş verir. Bunlara, atmosfer çöküntülərinin qeyri-bərabər düşməsi, yağıntıların mövsüm üzrə bərabər paylanmaması, ərazinin torpaq, iqlim xüsusiyyətləri və s. aiddir. Quraqlıq meteoroloji hadisə olub, uzun müddət atmosfer yağıntılarının olmaması səbəbindən baş verir. Yağıntıların az olması nəticəsində quraqlığın əmələ gəlməsi torpağın susaxlama qabiliyyəti və bitkilər tərəfindən həyata keçirilən transpirasiyanın sürəti ilə əlaqədar baş verir. Meteorologiyada quraqlıq – orta, güclü və çox güclü formalarda qeyd olunur. Orta quraqlıqda atmosfer çöküntüləri 60-70% təşkil etməklə, havanın temperaturu orta göstəricidən 1-1,5°C yüksək olur. Güclü quraqlıqda atmosfer çöküntüləri 60-70% olmaqla, temperatur 2°C artırsa baş verir. Çox güclü quraqlıq zamanı atmosfer çöküntüləri 50%-dən az olmaqla, temperatur orta illik göstəricidən 3-4% çox olur. Quraqlıq dedikdə, su qıtlığı və torpağın uzun müddət quruması və bitkilərin inkişafının tamamilə mümkün olmaması başa düşülür. Quraqlıq iki tipdə özünü büruzə verir [Singh, Singh, 1998]. Birinci növ quraqlıqda su qıtlığı yaranır. Su qıtlığı - bitkilərin yarpaqlarında ağızcıqların bağlanması və qaz mübadiləsinin azalmasına səbəb olan ortasəviyyəli su itkisidir. Nisbi su miqdarının təxminən 70%-ə qədərində qaldığı zəif su qıtlığına məruz qalan bitkilərdə ağızcıqların bağlanmasından asılı olaraq karbon qazının udulması zəifləyir. İkinci növ quraqlıq – quruma zamanı bitkilərdə metabolizm və hüceyrə quruluşunun tamam pozulması baş verir və nəticədə fermentativ reaksiyaların dayanmasına səbəb olan yüksək miqdarda su itkisi yaranır. Qurumaya həssas bitkilərin əksəriyyətində, suyun nisbi miqdarının 30%-dən aşağı düşdüyü hallarda belə vegetativ orqanların toxumaları bərpa oluna bilmirlər [Smirnoff, 1993, 1998]. Su çatışmazlığının və torpaq quraqlığının təsiri nəticəsində mədəni bitkilərin məhsuldarlığı normal su təminatı olan bitkilərlə müqayisədə 30-35% azalır [Boyer, 1982; Hoerling, Kumar, 2003; Rosegrant, Cline, 2003; Peters et al., 2004; Fedoroff et al., 2010].

Bitkilərin su balansını qoruması və su defisitindən “qaçması” onların hidravlik mexanizmindən asılıdır. Bu mexanizm, ilk növbədə üzərinə düşən radiasiyanı əks etdirərək albedonu aşağı salmaqla enerji gərginliyini azaldır. İkincisi, bitkilərin lazım olan suyun torpaqdan atmosfərə yarpaqlarda olan ağızcıqlar vasitəsilə ötürməsi qabiliyyətini müəyyən edir və beləliklə, trans-

pirasiyanı təmin edir. Su, torpaq-bitki-atmosfer ardıcılığı ilə hərəkət edir. Suyun bu ardıcılıqla hərəkəti şəbəkəyə daxil olan elementlərin - kök, gövdə, yarpaq, ağızcıq və kutikula müqavimətindən asılı olur. Bu orqanların müqaviməti, əsasən, bitkilərin anatomiyası, inkişafı və maddələr mübadiləsi dəyişmələrinin funksiyası kimi çıxış edir. Bu elementlərin hər birinin müqaviməti spesifik xarici amillərin təsirindən asılı olur. Məsələn, suyun torpaqdan atmosferə hərəkətində bitkilərdə yarpaqların su potensialı böyük rol oynayır. Bitki su defisiti vəziyyətinə keçən kimi onun köklərində və gövdəsində ABT (absis turşusu) hormonu sintez olunur. Hidravlik mexanizm ilə hormonal mübadilə prosesləri birlikdə bitkilərin stressə adaptasiyasını təmin edir. Bitkilərin ontogenezinə su defisitinə ən çox həssas olan dövr çiçəkləmə və çoxalma dövrüdür. Bitkilərin bu dövrlərdə su defisitinə məruz qalması dönmə olmur və reparasiya baş vermir.

Bitkilərdə su rejimini qiymətləndirmək üçün suyun ümumi miqdarını - rütubət, suyun nisbi miqdarı (SNM) və su qıtlığını (SQ) öyrənmək lazımdır. Suyun ümumi miqdarı SNM və SQ-nın təyini, bitki materialı 105°C temperaturda mütləq quru vəziyyətə gətiriləndə qurudulduqdan sonra Tambussi üsuluna əsasən yerinə yetirilir [Tambussi et al., 2005]. Torpağın təbii nəmliyi isə Aleksandrova və Naydenova [Александрова, Найденова, 1967] üsulu ilə təyin olunmuşdur.

Su qıtlığı zamanı bitkilərdə maddələrin nəqli, makromolekulların və onlardan yüksək olan quruluşların fəza strukturu pozulur. Bitkilərin su qıtlığına qarşı fizioloji cavab reaksiyası kompleks xarakter daşıyıb, hüceyrənin osmotik potensialını və ion homeostazını modulyasiya edir, turqoru, metabolizmi, hüceyrə tsikli və böyüməni tənzimləyir [Bianchi et al., 2002].

Bitkilərin böyüməsi və inkişafı kök sistemləri ilə udulan suyun miqdarından çox asılıdır. Bitkilərdə kök ilə sorulan suyun miqdarı yarpaqlardan buxarlanan suyun miqdarından az olduqda su stressi yaranır. Bu zaman bitkidə SNM, su potensialı və hüceyrələrin turqoru azalır, qeyri-üzvi ionların və başqa həllolan maddələrin qatılığı artır [Fedoroff et al., 2010]. Quraqlıqdan qorunmaq üçün bitkilər yarpaq səthində ağızcıqları tədricən bağlamaqla buxarlanmanı azaltmağa çalışırlar [Medrano et al., 2002]. Buxarlanmanın ləngiməsi qismən də olsa, su çatışmazlığının qarşısını alır. Ağızcıqların bağlanması ilə transpirasiya və karbon qazının hüceyrə daxilinə diffuziyasının və nəqlinin zəifləməsi karboksilləşmə mərkəzlərində CO₂-nin qatılığının azalmasına və nəticədə karbonun fotosintetik assimilyasiyasının zəifləməsinə gətirib çıxarır [Chaves et al., 2002; Lawlor, Tezara, 2009; Chaves et al., 2009; Brestik, Zivcak, 2013].

Müəyyən olunmuşdur ki, torpaq quraqlığı baş verdikdə bitkinin yerüstü orqanlarının böyüməsi ləngiyir, kökün inkişafı müəyyən müddət davam etdiyindən, kökün uzunluğunun və çəkisinin, gövdənin uzunluğuna və çəki-

sinə olan nisbəti dəyişir. Stres şəraitində kökün inkişaf edərək torpağın daha dərin və rütubətli qatlarından uzanması bitkinin su təminatının yaxşılaşmasına səbəb olur. Bu prosesdə absis turşusu və etilen kimi bitki hormonları mühüm rol oynayır [Wilkinson, Davies, 2010].

Quraqlıq bitkilərin məhsuldarlığını azaltmaqla, bütün metabolik proseslərə təsir göstərir [Chaves et al., 2002; Ober, Luterbacher, 2002; Mancini et al., 2006]. Quraqlığın təsirindən hüceyrədə sərbəst suyun miqdarı azaldığından sitozol zülallarının su qişasının dağılması nəticəsində fermentlərin aktivliyi azalır və proteolizin sürətlənməsi nəticəsində hüceyrədə kiçikmolekullu zülalların miqdarı artır. MH-də baş verən dehidratasiya reaksiyaları fotosintez aparatının zədələnməsinə səbəb olur [Mancini et al., 2006]. Hətta, hüceyrə dehidratasiyaya məruz qaldıqda belə, hüceyrə divarının möhkəmliyi mexaniki müdafiəni təmin edə bilər. Lakin bu, hüceyrə kompartimenti keçirici olduğu üçün daha güclü stres zamanı susuzlaşmanın qarşısını ala bilmir [Verslues et al., 2006].

Bitkilərin su stresinə qarşı verdikləri cavab reaksiyaları bitkinin növündən, orqan və toxumanın tipindən, hüceyrənin kompartmentallığından, su çatışmazlığının intensivliyindən və davam etmə müddətindən, bitkinin ontogenezdən asılı olaraq fərqlənir [Mancini et al., 2006; Rampino et al., 2006; Yang et al., 2010; Pinheiro, Chaves, 2011; Aranjuelo et al., 2011; 2012]. Bitkilərin quraqlığa adaptasiyasının biokimyəvi mexanizmləri orqanizmin inkişafının zəifləməsi, spesifik genlərin transkripsiyasının aktivləşməsi, yaxud inhibirlənməsi, ABT səviyyəsinin müvəqqəti yüksəlməsi, turqorogen maddələrin və induktiv fermentlərin sintezinin artması, antioksidantların səviyyəsinin yüksəlməsi, enerji sərfinin azaldılması və bir sıra digər proseslərlə xarakterizə olunur [Mancini et al., 2006].

Bitkilərdə quraqlığa davamlılıq müxtəlif mexanizmlərlə baş verir:

a) *Quraqlıqdan qaçma*. Bitki su bolluğu şəraitində özünün həyat fəaliyyətini təkmilləşdirməklə quraqlıqdan qaçır. Başqa sözlə, quraqlıqdan qaçma bitkinin quraqlıq stresinə qədər öz inkişafını təkmilləşdirməsi bacarığıdır [Jiang, Hung, 2002; İsendahl, Schmidt, 2006].

b) *Quraqlıqdan qorunma*. Bitkilərin aşağı su həddi miqdarına malik mühitdə olmasına baxmayaraq, onların daxili su potensialı yüksək səviyyədə saxlanılır. Buna görə də bitkilər quraqlıq stresinin yaratdığı ağır nəticələrdən kənar qalır və hüceyrələr turqosentliyini qoruyub saxlayırlar [Jiang, Hung, 2002].

Stresdən qorunmaq üçün bitkilərdə bir sıra uyğunlaşmalar əmələ gəlmişdir. Belə uyğunlaşmalara mənfi su potensialı yaratmaq, suyu əldə etmək, saxlamaq və qənaətlə istifadə etmək də aiddir. Hemikserofitlər kimi bəzi bitkilər güclü kök sistemi əmələ gətirməklə onların böyümə sürətini artırırırlar. Aşağı su potensialında köklərin böyümə sürəti, yarpaqlara nisbətən, xeyli

yüksək olur (hemikserofitlər), yarpaqlarda ağızcıqların sayı azalır və dərin qatlarda yerləşir (sukkulentlər, kserofitlər), yarpaqlar müəyyən istiqamət alır, burulur və səthinin sahəsini azaldır (hemikserofitlər, stipakserofitlər), kutikula qalınlaşır, transpirasiyanı, hətta 50%-ə qədər azalda bilirlər (mezofitlər, kserofitlər), ksilemma borucuqlarının sayı artır (kserofitlər) [Behera et al., 2002]. Bu əlamətlərə fotosintez göstəricilərini, kutikulyar buxarlanmanın azlığını, osmotik potensialın artmasını, ağızcıqların bağlanması, yarpaqlarda və başqa orqanlarda yağların toplanmasını, yarpaq səthinin azalmasını, yarpaqların şəkildəyişməsinə də misal göstərmək olar [Behera et al., 2002].

c) *Quraqlığa dözümlülük* – bitki hüceyrəsinin su potensialının aşağı olmasına baxmayaraq dayanıqlı vəziyyətinə deyilir [Bouteau et al., 2001].

Məlumdur ki, quraqlığa qarşı fotosintetik uyğunlaşma yarpağın yaşından asılı olaraq dəyişir. Cavan yarpaqlar yaşlı yarpaqlara nisbətən quraqlığa daha davamlı olurlar. Bitkinin su stresindən yayınması, quraqlığa davamlı olması və məhsuldarlığın kəskin azalmasının qarşısını almaq üçün rehidratasiyadan sonra fotosintezin bərpası mühüm əhəmiyyət kəsb edir [Chaves et al., 2009]. Qeyd olunmuşdur ki, güclü stressdən sonra baş verən bərpa iki - mərhələli prosesdir: birinci mərhələ, yeni suvarmadan bir neçə saat və ya bir neçə gün sonra yarpağın su təminatının yaxşılaşmasını və ağızcıqların yənidən açılmasını əhatə edir [Pinheiro et al., 2005; Hayano-Kanashiro et al., 2009]; ikinci mərhələ, bir neçə gün davam edir və bu zaman fotosintetik zülalların *de novo* sintezi baş verir [Kirschbaum, 1988]. Stresin intensivliyi və davam etmə müddəti fotosintezin bərpasının həm sürətinə, həm də səviyyəsinə təsir edir [Miyashita et al., 2005; Flexas et al., 2006; Galmés et al., 2007]. Bərpa prosesi prolin, mannitol, sorbitol, MDA kimi aralıq metabolitləri və aktiv oksigen radikallarını dağıdan birləşmələrin (α -tokoferol, askorbat, qlütation) toplanması ilə nəticələnir [Khan et al., 2015; Khan et al., 2015].

Quraqlıq stressi zamanı fotoperiodun sonunda nişastanın səviyyəsi azalmış olur. Bu onu göstərir ki, gecə böyümənin baş verməsi üçün lazım olan karbonun miqdarı nisbətən azalmışdır [Liu et al., 2010].

Ümumiyyətlə, quraqlığın təsirindən fotosintez tənəffüsə nisbətən daha sürətlə zəifləyir. Bu zaman, su çatışmazlığı üzündən atmosferdən diffuziya olunan CO₂-nin miqdarının azalması, tənəffüsün isə sürətlənməsi hüceyrəarası CO₂-nin qatılığının artmasına və bitkidə karbon tarazlığının dəyişməsinə gətirib çıxarır [Ennahli, Earl, 2005; Lawlor, Tezara, 2009].

Rikardi və b. göstərmişlər ki, quraqlıq zamanı xloroplastlarda yerləşən əksər fermentlərin miqdarının azalmasına baxmayaraq, sitoplazmatik zülalların miqdarı artır. Onlar müxtəlif qarğıdalı növləri ilə apardıqları tədqiqatlar nəticəsində göstərmişlər ki, quraqlıqda digər sitoplazmatik zülallarla ya-

naşı, NAD-MDH fermentinin miqdarı da kəskin artır [Riccardi et al., 2000]. Quraqlıq bitkilərdə karbon və azot metabolizmində kompleks dəyişkənlik yaradaraq su qıtlığının yaranmasına və qida maddələrinin modifikasiyasına səbəb olur. Qarğıdalı bitkisi ilə aparılan təcrübələr göstərmişdir ki, bitkilərin yarpaqlarında azot və karbon metabolizmində mühüm rol oynayan nitratreduktaza və saxaroza-fosfat-sintetazanın aktivliyi quraqlığın təsirindən azalsa da, FEPK aktivliyi artır. FEPK-nın mRNT-nin miqdarı hər iki variantda sabit qalsa da, fermentin quraqlıq təsirindən aktivliyinin artması, malatın inhibitor təsirinə qarşı həssaslığının azalması hesabına baş verir [Foyer et al., 1998]. Məlumdur ki, fermentin N-sonluq hissədən serin qalığının fosforlaşması onun fermentativ aktivliyinin artmasına və malatın inhibitor təsirinə qarşı həssaslığın azalmasına səbəb olur. Torpaq quraqlığına məruz qalmış buğdanın müxtəlif genotiplərində FEPK, NAD-, NADF-MDH və digər C₄-dövrəni fermentlərinin aktivliyinin artması yarpaq səthində ağızciq aparatının bağlanması hesabına CO₂-nin fotosintetik hüceyrələrə daxil olmasının çətinləşməsi ilə əlaqədar xloroplastlarda, Rubisko ətrafında, karboksilləşmə mərkəzində, CO₂ qazının qatılığını artırmağa xidmət edir. Eyni zamanda quraqlıqda FEPK, NAD-MDH və aspartataminotransferaza (AsAT) fermentlərinin aktivliyinin artması karbonlu birləşmələrin sintezində dəyişiklik yaradaraq aminturşulara nisbətən üzvi dikaron turşuların sintezini gücləndirir. Bu işə öz növbəsində, yarpaq səthində ağızciq hüceyrələrinin qismən qapanması nəticəsində, atmosferdən daxil olan CO₂-nin azalmasını kompensasiya etmək üçün əlavə CO₂ qazı mənbəyi rolunu oynayır [Riccardi et al., 2000].

Buğda genotiplərinin yarpaqlarında olduğu kimi, sünbül elementlərində də bu fermentlərin aktivliyi quraqlığa məruz qalmış bitkilərdə normal su təminatı olan bitkilərə nisbətən daha kəskin azalır. KA və Rubisko aktivliyi inkişafın son mərhələlərində sünbül elementlərində aşağı olmaqla, quraqlıq şəraitində kəskin azalır. Rubisko və KA aktivliyinin azalması bəzi hallarda paralel olaraq baş verir [Алиев и др., 1986; Алиев, Гулиев, 1990]. Quraqlığın təsirindən Rubisko aktivliyinin [Parry et al., 2002; Tezara et al., 2002] və RuBP-nin regenerasiyasının zəifləməsi [Bota et al., 2004; Flexas et al., 2004; Dias, Brüggemann, 2007] fotosintezi məhdudlaşdıran əsas amillərdən biri hesab olunur.

Su çatışmazlığı ciddi stres amili olub, bitkinin təbii yayılmasında, böyümə və inkişafında, təkamülündə və fiziologiyasının formalaşmasında böyük rol oynayır [Dudley, 1996]. Onun təsiri ilə bitkilərdə zaman və məkan daxilində yerüstü orqanların böyüməsinin [Granier et al., 2000], transpirasiyanın və fotosintezin zəifləməsi [Boyer, 2010], detoksifikasiya proseslərinin sürətlənməsi [Hare et al., 2002] və bəzi genlərin paralel olaraq transkripsiyası [Xue et al., 2008] səviyyəsində morfofizioloji dəyişikliklər baş verir [Chaves et al., 2002].

Quraqlıq bitkilərin vaxtından tez qocalmasına, xloroplastların dağılması ilə əlaqədar olaraq xlorofilin miqdarının azalmasına səbəb olur. Güclü quraqlığın təsiri şəraitində tilakoid membranı çox nazıqləşir və kiçik hissələrə bölünür, qranlar parçalanaraq membrana yaxınlaşır, xloroplastın isə xarici membranı nazıqləşir. Su stresi şəraitində yarpaqlarda ağızcıqların ölçüləri və sıxlığı azalır [Xu, Zhou, 2008]. Quraqlıq stresi buğda genotiplərinin quru biokütləsinin [Алиев и др., 1996; Алиев 2006; Changai et al., 2010], yarpaqda SNM-nin [Алиев 2006; Dulai et al., 2006] və yarpaq sahəsinin azalmasına [Алиев 2006; İzanloo et al., 2008] gətirib çıxarır. Bitkinin boyunun, yarpaq sahəsinin və yarpaq sahə indeksinin azalması sudan istifadəni yaxşılaşdırır və quraqlıq stresinin mənfi təsirinin dəf olunması ilə nəticələnir [Huseynova et al., 2016; Mitchell et al., 1998].

Quraqlığın [Pinheiro, Chaves, 2011] və şoranlığın [Munns et al., 2006] təsir göstərdiyi ilkin proseslərdən biri də fotosintezdir. Quraqlığın fotosintezə təsiri CO₂-nin ağızcıqlar və MH-dən diffuziyasının məhdudlaşması yolu ilə birbaşa [Flexas et al., 2004; 2007] və ya fotosintetik metabolizmdə dəyişikliklər əmələ gətirməklə dolayı yolla [Lawlor, Cornic, 2002], xlorofillərin miqdarı və havada CO₂-nin miqdarının azalması oksidləşdirici stres kimi təsir edir [Chaves, Oliveira, 2004; Rahnama et al., 2010].

Bitkilərin quraqlıq stresinə davamlılığının diaqnostik üsullarından biri də, stres təsirindən yarpaqlarda fotosintezin piqment sistemlərinin miqdarının təyinindən ibarətdir. Piqmentlərin miqdarı Sims və Gamon [Sims, Gomon, 2002] üsulu ilə 80%-li aseton ekstraktında (aseton:Tris-HCl bufer, 1 M, pH 7,8 = həcmcə 80:20) spektrofotometrik üsulla təyin olunmuşdur. Bu sahədə apardığımız tədqiqatlar göstərir ki, quraqlıq stresinin təsirindən amarant və buğda genotiplərinin yarpaqlarında xlorofillərin (*a*, *b*, (*a+b*), *a/b*) və karotinoidlərin (*Kar*) miqdarında nəzərəçarpan dəyişikliklər baş verir [Babayev, 2018]. Amarantın inkişafının sünbülləməni və çiçəkləmə mərhələlərində MH-də ÖTH-ləri ilə müqayisədə torpaq quraqlığının təsirindən xlorofil *a/b* nisbəti quraqlıq variantlarda kontrola nisbətən artmışdır. Yalnız toxum yetişmə mərhələsində bunun əksinə olan nəticələr alınmış və xl *a/b* nisbəti stresin təsirindən ÖTH-lərdə MH-lərlə müqayisədə artmışdır. Bitkinin inkişafının bu mərhələlərində kontrol və stres variantlarında MH və ÖTH-də xlorofil *a/b* nisbətinin azaldığı vaxtda *Kar* miqdarında artım baş vermişdir. Belə ki, torpaq quraqlığının təsirindən *Kar* artması ÖTH-də, xlorofillərin miqdarının azalması isə daha çox MH-də nəzərə çarpmışdır. Bitkilərin ekstremal amillərə qarşı davamlılığının analizində *Kar/Xl* (*a+b*) nisbətinin ÖTH-də kontrolla müqayisədə daha yüksək olması torpaq quraqlığı şəraitində *Kar* miqdarının artması, *Xl* (*a+b*) göstəricisinin isə azalması hesabına baş vermişdir. Bitkinin inkişafının bütün mərhələlərində hər iki toxumanın kontrol nümunələrində bu nisbətə dəyişməsində fərq nəzərə çarpmasa da, stre-

sin təsirindən ÖTH-də MH-nə nisbətən daha yüksək artım müşahidə olunmuşdur. Buna oxşar nəticələr buğda genotipləri ilə aparılan təcrübələr zamanı alınmışdır. Eyni zamanda zülalın ümumi miqdarı (həllolan zülalın ümumi miqdarı 0,12%-li Coomassie Brilliant Blue G-250 məhlulunun köməyi ilə 610 nm dalğa uzunluğunda [Sedmak, Grossberg, 1977] Sedmaka təyin olunmuşdur) və yarpaqdakı SNM torpaq quraqlığının təsirindən Bərəkətli-95 genotipində Qaraqılçiq-2 genotipi ilə müqayisədə həmişə yüksək olmuşdur [Babayev, 2018].

Alınan nəticələrin analizi göstərir ki, bitkinin fizioloji vəziyyəti, məhsuldarlığı və adaptasiya qabiliyyəti onun məskunlaşdığı mühidə stres amillərinin təsiri altında formalaşan bəzi bioloji proseslərin səviyyəsindən də asılıdır [Babayev, 2018].

Quraqlıq zamanı işığın udulması ilə enerjidən istifadə balansının təyini, fotosintezin qiymətləndirilməsi mühüm fizioloji prosesdir [Pinheiro, Chaves, 2011; Aranjuelo et al., 2011; Chaves et al., 2009]. Quraqlığın fotosintezə birbaşa təsiri nəticəsində ağızcıqlar bağlanır və transpirasiyanı və CO₂-nin udulmasını azaldır ki, nəticədə fotosintezin aktivliyi aşağı düşür [Nayyar, Gupta, 2006]. Quraqlıq şəraitində bitkilərin yarpaqlarında ABT-nin miqdarı artır və ağızcıqlar bağlanır [Christopher, Tony, 2008]. Müəyyən olunmuşdur ki, ABT özünəməxsus membran reseptorlarının köməyi ilə membranda Ca²⁺ signalını işə salır. Kalsium isə öz növbəsində proteinkinaza, fosfotaza və membranlarda ion mübadiləsi vasitələri ilə ağızcıqların fəaliyyətini tənzimləyir. Digər bir yol - ion daşınması yolu ilə ağızcıq hüceyrələrində osmotik təzyiqin dəyişməsi yoludur [Luan, 2002]. Hətta ağızcıqlar kök hüceyrələrində sintez olunan ABT-ni də hiss edə bildiyindən köklərdə su balansının dəyişməsi də onların fəaliyyətini tənzimləyə bilər.

Tədqiqatlar zamanı müəyyən olunmuşdur ki, su stresinin təsir etdiyi fizioloji proseslərdən biri də tənəffüsdür. Su stressi zamanı dənli və ot bitkilərinin aktiv inkişaf mərhələlərində, köklərdə və yetkin yarpaqlarda tənəffüsün zəifləməsi müşahidə edilmişdir [Lambers et al., 2005; Galmes et al., 2007]. Buna səbəb olan əsas amil kimi, fotosintezin zəifləməsi nəticəsində mitoxondrilərdə tənəffüs substratının miqdarının azalması göstərilir [Flexas et al., 2006 a; Gimeno et al., 2010; Pinheiro, Chaves, 2011]. Sonrakı tədqiqatlar zamanı aşkar edilmişdir ki, güclü su stressi zamanı fotosintezi aktivləşdirmək, yəni xloroplastlarda azalan ATF ehtiyatını bərpa etmək üçün oksidləşdirici fosforlaşma zamanı əmələ gələn ATF-ə daha yüksək tələbat yarana bilər [Flexas et al., 2005, 2006; Gratani et al., 2007; Atkin, Macherel, 2009].

Məlumdur ki, bitkilərin məhsuldarlığı fotosintez və tənəffüs proseslərinin balansından çox asılıdır [Lambers et al., 1998]. Fotosintez prosesi bitkilərin əksəriyyətində işıqla limitlənsə də tənəffüs prosesi hər zaman baş verir. Quraqlığın bitkilərdə tənəffüs prosesinə təsiri ilə bağlı geniş tədqiqat iş-

ləri aparılrsa da, məsələnin həlli hələlik tam aydınlaşdırılmamış qalır. Müəyyən edilmişdir ki, quraqlıq bitkilərdə tənəffüsün energetik effektivliyini kəskin aşağı salır və oksidləşmə ilə fosforlaşma proseslərinin əlaqəsini pozur. Bu isə hüceyrədə ATF-in əmələ gəlməsini aradan qaldırır və metabolik reaksiyaların normal gedişinə mane olur.

Quraqlıq tənəffüs fermentlərinin fəaliyyətinə də təsir edir. Hidrolitik fermentlərin fəaliyyətini artırır və nəticədə bitkinin toxumaları karbohidrat və proteinləri daha çox toplayır. Quraqlıq fenomeninin təsiri ilə bitkilərdə ATF-azanın fəaliyyəti çoxalır. Nəticədə ATF-in çevrilməsi dövrüyyəsi pozulur və elə vəziyyət yaranır ki, bitkilər ATF-in enerjisindən normal istifadə edə bilmirlər [Subbarao et al., 2001].

Məlumdur ki, həllolan şəkərlər bitkilərin davamlılığında və uyğunlaşmasında mühüm rol oynayırlar. Müəyyən olunmuşdur ki, quraqlıqda bitkilərin yarpaqlarında həllolan şəkərlərin miqdarı müxtəlif ekoloji tiplərdə eyni olmur, mezofitlərdə quraqlıq zamanı şəkərlərin miqdarı kserofitlərə nisbətən xeyli çox olur. Davamlı quraqlıq zamanı hidrolitik parçalanma karbohidratların ehtiyatını azaldır, nəticədə makromolekullar, o cümlədən zülalların da ehtiyatı azalır. Odur ki, həllolan şəkərlərin miqdarının artması bitkilərin həyatında gərgin anların başlaması üçün bir indikatorudur.

Su stresi zamanı hormonal münasibətlər də pozulmağa başlayır. Bu zaman ABT-nin miqdarı artır, ağızcıqlar bağlanır, transpirasiya zəifləyir və fotosintez dayanır [Godijn et al., 1999].

Torpağın nəmliyinin azalması fosforlu birləşmələri azaldır. Bitkilər tərəfindən bor elementinin mənimsənilməsi də torpağın nəmliyindən asılıdır və nəmliyin az olması bor elementinin bitkilərə sorulmasını çətinləşdirir. Quraq torpaqlarda dəmir, mis, sink və maqnezium elementləri stabiləşdirilir. Bitkilərin mineral elementlərlə təminatı quraqlıq şəraitində ciddi dəyişikliyə uğrayır. Quraqlığa məruz qalan bitkilər qida elementlərini gec mənimsəyir. Mineral elementlərin mənimsənilmə dərəcəsi onlara olan ehtiyaca ciddi təsir edir [Ozturk, Demir, 2002].

Müəyyən edilmişdir ki, su stresinə məruz qalmış bitkilərdə geniş diapazonda fotosintez və fototənəffüs proseslərində oksigenin aktiv formaları (OAF) əmələ gəlir, nəticədə hüceyrələr ciddi zədələnir [Taylor et al., 2003].

ŞORANLIĞIN BİTKİLƏRƏ TƏSİRİNİN FİZİOLOJİ- BİOKİMYƏVİ ƏSASLARI

Torpaqda toplanan duzların miqdarı ali bitkilərin böyüməsi və inkişafı üçün zərərli təsir göstərəcək həddə olarsa, belə torpaqlar şoran torpaqlar adlanırlar. Torpaqların şoranlaşması bir çox səbəbdən baş verə bilər. Buna misal olaraq qurultuların səviyyəsinin qalxması, aqrotexniki qaydalara düzgün

riayət edilməməsi, yeraltı suların səviyyəsinin qalxması nəticəsində torpağın üst qatının şoranlaşması, meşə ərazilərinin azalması və bir çox başqa prosesləri göstərmək olar.

Araşdırmalar göstərir ki, Yer kürəsinin 6% torpaqları və bu torpaqlardan 45 milyon hektar suvarılan ərazi müxtəlif dərəcədə şoranlaşmışdır. Təkcə Asiya qitəsində şoran torpaqlar dünya şoran torpaq sahəsinin 1/3-ni təşkil edir [FAO Soils Bulletin 39].

Bəzi tədqiqatlara əsasən, Azərbaycanda əkinə yararlı torpaqların təqribən yarısı itirilmişdir. Azərbaycanın vahid torpaq fondunun sahəsi 8641500 ha təşkil edir. Bu torpaqların 4,5 milyon hektarı kənd təsərrüfatına yararlı hesab edilir. Hazırda bunun 30%-i, yəni 1583 000 hektarı istifadə edilir. Əkin üçün yararlı torpaqların 600 000 hektarı ermənilərin işğalı altındadır. Azərbaycan torpaqlarında sulfatlı, xloridli, sodalı şorlaşmış torpaq tiplərinə və onların müxtəlif şorlaşma dərəcələrinə təsadüf edilir [Heydərova, 2013].

Torpaqda duzların toplanması suyun köklər tərəfindən qəbul olunmasını çətinləşdirir və torpağın kolloid-fiziki xassəsinin pisləşməsinə səbəb olur. Duza davamlılıq bəzi bitkilərdə duzun udulması və toxumalardakı yüksək osmotik təzyiğin yaradılması, ikinci növ bitkilərdə üzvi turşuların və şəkərlərin hesabına osmotik təzyiğin artırılması, üçüncü növ bitkilərdə isə duzların udularaq yarpaqlara daşınması və yarpaqların səthinə çıxarılaraq oradan da külək vasitəsi ilə sovrulması hesabına baş verir [Кольман, 2004; Sio-Se Marde et al., 2006; Афанасьев, Березина, 2011; Хелдт, 2011].

Bitki toxumalarında metabolitlərin toplanması ilə əlaqədar olaraq, su itkisi zamanı biokolloidlərin fiziki-kimyəvi xassələri dəyişir. Susuzlaşma ilk növbədə protoplazmanın, onun orqanoidlərinin və biomembranlarının ultraquruluşunda kəskin dəyişikliklərə səbəb olur. Bununla əlaqədar olaraq bitkilərdə fotosintezin intensivliyi, biosintetik proseslərin sürəti zəifləyir, zülalların və RNT-nin hidrolitik parçalanması isə güclənir. Yarpaqda suyun miqdarının həddən çox azalması irimolekullu birləşmələrin parçalanmasına səbəb olur ki, bu da, öz növbəsində, assimilyasiyaedici hüceyrələrdə osmotik fəal maddələrin toplanmasına gətirib çıxarır. Quraqlıq stressi nəticəsində nişasta sadə şəkərlərə, zülallar isə aminurşulara qədər parçalanırlar. Nişastanın şəkərə çevrilməsi və onların da hüceyrələrdə toplanması osmotik təzyiğin yaranmasına səbəb olur. Bunun nəticəsində suyun bitki hüceyrəsindən kənar olunması zəifləməklə su itkisi azalır. Su çatışmazlığına məruz qalan bitkilərdə həllolan şəkərlər osmosu tənzimləmək üçün vakuollarda toplanır və buna görə də hüceyrədə mayenin artımında iştirak etmirlər. Həllolan şəkərlər quraqlıq stressi şəraitində zülalların və hüceyrə qlafının davamlılığının qorunmasına səbəb olurlar [Clifford et al., 1998].

Ali bitkilərin əksəriyyəti qlikofitlərdir. Bu bitkilər duz stressinə dözümlü deyillər. Duzadavamlı bitkilər isə halofitlər adlanırlar. Halofitlər şiddətli şoran

torpaqlarda normal həyat tsiklinə malik olub, özlərinin ontogenezi tam başa çatdırıla birlər [Zhu, 2002; Qasimov, 2008]. Qlikofitlərin böyüməsi və inkişafı NaCl duzunun 100-200 mmol qatılıqlarında ciddi tormozlanır və hətta bəziləri məhv olur. Halofitlər isə 300 mmol qatılıqda belə normal inkişaf edir və məhsul verə birlər [Busra, 1997; Jian-Kang Zhu., 2007]. Halofitlər yüksək duzluluqda ionları akkumulyasiya etmə mexanizmi inkişaf etdirmişlər ki, bu da hüceyrədə osmotik potensialı azaltmağa yönəlmişdir. Bəzi halofitlər təkamüldə yarpaqlarında və gövdələrində duzu çıxaran spesifik hüceyrələr yaratmışlar. Duz vəzisi adlanan bu hüceyrələr duzu, hətta qonşu hüceyrələrdən də götürə bilir və onları yarpağın səthinə çıxarırlar. Yarpağın səthinə yığılmış duzlar isə yağış zamanı yuyulur [Jian-Kang Zhu., 2007].

Quraqlıqadözümlü sortlar quraqlığa həssas sortlarla müqayisədə öz hüceyrələrində daha çox şəkər topladıqlarından uzun müddət suyu özlərində saxlamaq qabiliyyətinə malik olurlar ki, bu da sortların daha çox osmotik potensiala malik olmasına gətirib çıxarır [Morqan, 1999]. Bəzi alimlər belə qənaətə gəlmişlər ki, prolin aminturşusunun miqdarının artması böyük molekulların, o cümlədən zülalların parçalanması hesabına baş verir [Аверина и др., 2010]. Bu mexanizm vasitəsilə bitkilər öz hüceyrələrində turqor təzyiqinin yaranmasına şərait yaradaraq, bir tərəfdən su molekullarının itirilməsinin qarşısını alır, digər tərəfdən isə hüceyrə şirəsinin susaxlama qabiliyyətini artırmaq və osmotik tənzimləmə yolu ilə transpirasiyanı azaltmaqla fotosintez prosesini davam etdirə birlər [Riccardi et al., 2000; Christopher, Tony, 2008]. Bəzi müəlliflər göstərirlər ki, qarğıdalı hibridlərinin quraqlıqadavamlılıq dərəcəsi ilə prolin aminturşusunun toplanması arasında birbaşa əlaqə vardır [Mohammadkhani, Heidari, 2008; Şhiri, 2013].

Buğda genotiplərində osmotik stresin təsirini araşdırarkən buna oxşar nəticələr əldə olunmuşdur. Bu nəticələrin müəllifləri göstərirlər ki, stres şəraitində daha yaxşı inkişaf edən genotiplərdə daha çox karbohidrat və prolin toplanır [Johari-Pireivatlou, 2010]. Müəyyən olunmuşdur ki, daha çox prolin toplanan bitkilər, adətən daha yüksək osmotik tənzimləməyə və stres şəraitində öz hüceyrələrində yüksək susaxlama potensialına malik olduqlarına görə daha çox məhsuldarlığa malik olurlar. Lakin bəzi tədqiqatçılar göstərirlər ki, bəzən quraqlıqadavamlı sortlar, quraqlığa həssas sortlara nisbətən az prolin toplayırlar [Christopher, Tony, 2008].

Bartels və Sunkarın aldıqları nəticəyə görə yüksək həllolma qabiliyyətinə malik olan hidrofil molekullar – osmolitlər hüceyrədə şişkinliyin saxlanmasından başqa, oksidləşdirici streslə mübarizə aparmaq üçün aktiv oksigen radikallarını parçalamaq kimi əlavə qabiliyyətiə də malikdirlər [Bartels, Sunkar, 2005]. Quraqlıq stressi zamanı trihalloza disaxaridinin toplanaraq rüşeymin və çiçəyin inkişafında, həmçinin, karbon metabolizminin və fotosintezin tənzimlənməsində rol oynadığı aşkar olunmuşdur [Iturriaga et al., 2009].

Hal hazırda duzadavamlılığın, duzun bitkiyə daxil olmasını və sitoplazmada duzun qatılığını minimuma endirən mexanizmləri mövcuddur. Halofitlər hər iki tip mexanizmə malik olub, duzu kənarlaşdırma və hüceyrə üçün lazım olan duzu vakuollarda effektiv kompartmentləşdirə bilirlər. Bu proses bitkilərə duzlu mühitdə uzun müddət yaşamaq imkanı verir. Su buxarlandıqca yarpaqlarda duzun toplanması tədricən artır. Yaşlı yarpaqlarda cavan yarpaqlara nisbətən istənilən zaman fasiləsində yığılan duzun qatılığı daha çox olur. Nəhayət, yaşlı yarpaqlarda duzun qatılığı artaraq hüceyrələri məhv etmək səviyyəsinədək çata bilər [Munns, 2009; Munns, Tester, 2008].

Bitki orqanizmlərində duzların təsirinə məruz qalan ilk orqan kök sistemidir. Şoran torpaqlarda osmotik təzyiq güclü olduğundan su bitkilər tərəfindən udula bilmir və bitkilərin su rejimi pisləşir. Köklər duzun və torpaq quraqlığının təsirinə birbaşa məruz qalsalar da təəccüblü dərəcədə davamlıdırlar. Köklərdə ionların qatılığı yarpaqlarda olduğu kimi zaman keçdikcə artmır və onlar adətən Na^+ və Cl^- ionlarının xarici mühitlə müqayisədə kiçik qatılıqlarına malik olurlar ki, bu da yarpaqlarda nadir hallarda baş verir. Məsələn, NaCl -un 150 mM qatılığında yetişən buğdanın müxtəlif genotiplərinin kökündə yalnız 20-40 mM Na^+ aşkar edilmişdir [Gorham et al., 1990].

Bitkinin su və duz stresinə verdiyi ilkin cavablar, əsasən, identik olur [Munns, 2002; Munns, Tester, 2008]. İstər quraqlıq və istərsə də şoranlıqda bitkinin bütün orqanlarında az və ya çox dərəcədə fizioloji su çatışmazlığı baş verir. Lakin duz stressi uzun müddət davam etdikdə, bitki, dehidratasiyadan başqa, həm də hiper-ionik və hiper-osmotik stressə də cavab verməli olur. Yarpaq toxumasındaki su çatışmazlığı yalnız torpaqdakı suyun miqdarından deyil, həm də atmosferdəki buxar təzyiqindən asılı olaraq yaranır [Chaves et al., 2009].

Fotosintez və hüceyrənin inkişafında baş verən dəyişikliklərdən başqa, hər iki stres zəif inkişaf etdikdə osmotik tənzimləmə induksiya olunur ki, bu da stres şəraitində suyun udulmasını və hüceyrə turqorunu təmin edən mühüm mexanizm hesab olunur. Quraqlıq və şoranlığın fotosintezə təsiri (gövədə və kökdə əmələ gələn hormonlarla) ağızcıqların açılmasının məhdudlaşması vasitəsilə CO_2 qazının xloroplastlara diffuziyasının və MH-yə nəqlinin məhdudlaşmasından başlayaraq, yarpağın fotokimyası və karbon metabolizminə kimi dəyişiklikləri əhatə edir. Stresin intensivliyi və davam etmə müddəti, həmçinin yarpağın yaşı (daha yaşlı yarpaqlar daha çox təsirə məruz qalır və daha çox duz toplayırlar) və bitkinin növündən asılı olaraq stresin bitkiyə təsiri müxtəlif olur [Lawlor, Cornic, 2002; Munns, 2002; Munns, Tester, 2008; Chaves et al., 2003; Flexas et al., 2004; Galmes et al., 2007a; Jaleel et al., 2008].

Bitkilərin duz və su stresinə verdiyi cavablarda ümumi cəhətlər çoxdur. Şoranlıq bitkinin su udmaq qabiliyyətini azaldır və bu tez bir zamanda

inkişaf sürətinin azalması ilə birlikdə su stresinin doğurduğu dəyişikliklərə oxşar olan metabolik dəyişikliklər yaradır. Duzadavamlı bitkilər Na^+ və Cl^- ionlarını vakuollarda toplamaqla onların sitoplazmada və ya hüceyrə divarlarında toplanmasının qarşısını almaqla onların toksik təsirindən yayınırlar [Munns et al., 2000; Munns, 2009].

QURAQLIQ VƏ DUZLULUQ ŞƏRAITİNDƏ CO_2 -nin ASSİMİLYASIYASI

Ağızcıqlar yarpaqda turqorun və su potensialının azalmasına, atmosferdə yüksək su buxarı təzyiqinin çatışmazlığına və kökün kimyəvi siqnallar yaratmasına cavab olaraq qapanır [Maroco et al., 1997; Chaves et al., 2009]. Su stresi zamanı fotosintezin zəifləməsi, ilk növbədə, ağızcıqların keçiriciliyinin azalması nəticəsində baş verir [Brestik, Zivcak, 2013]. Quraqlıq artıqca ağızcıqların qapanması güclənir, fotosintezin sürəti zəifləyir [Medrano et al., 2002]. Quraqlığın təsiri şəraitində transpirasiyanı azaltmaq məqsədi ilə ağızcıqların bağlanması əlavə olaraq yarpaqlar vasitəsi ilə udulan CO_2 -nin miqdarının azalmasına səbəb olur [Chaves et al., 2002]. Sonuncu əlamət həm quraqlıq, həm də şoranlıq üçün xarakterikdir. Buna görə də ağızcıqların qapanması nəticəsində Rubisko üçün CO_2 ehtiyatının toplanması çətinləşir ki, bu da fotosintetik aparatın enerji itkisini artırır və bitkilər yüksək işıq intensivliyi və temperatura məruz qaldıqda fotosintezin sürəti zəifləyir. Zəif stres zamanı ağızcıq keçiriciliyinin azalması bitkinin suya qənaət etməsi və sudan istifadə effektivliyinin artmasına imkan verən stresə qarşı müdafiə effektinin yaranmasına imkan verir [Chaves et al., 2002].

Müəyyən olunmuşdur ki, hər iki stres zamanı yarpağın MH-dən nəql olunan CO_2 -nin miqdarı azalır [Flexas et al., 2004; 2007]. Bu prosesdə ağızcıq keçiriciliyi (g_m) bir o qədər əhəmiyyətli olmasa da, g_m -in hesablanması məqsədəuyğun hesab olunur [Warren, 2006]. Flexas öz əməkdaşları ilə birlikdə [Flexas et al., 2006 a; 2007; 2008] su və duz stresi zamanı oxşar nəticələrin alındığını müəyyənə etmişlər. Mezofil keçiriciliyində baş verən bu dəyişikliklər yarpağın büzüşməsi nəticəsində hüceyrəarası boşluqda baş verən fiziki, biokimyəvi dəyişikliklərlə (bikarbonatın CO_2 qazına çevrilməsi) və ya membranın keçiriciliyinin dəyişməsi ilə bağlı ola bilər [Lawlor, Cornic, 2002; Flexas et al., 2008]. Əvvəllər belə hesab edirdilər ki, su stresi zamanı yarpağın daxilə diffuziya keçiriciliyi azalır [Jones, 1973]. Lakin Jones tərəfindən istifadə edilən modeldə xloroplastlarda CO_2 -nin qatılığının sifra və ya kompensasiya nöqtəsinə yaxın olduğu qəbul edilsə də, sonralar bu fikir təkzib edilmişdir [Farquhar, Sharkey, 1982]. Xlorofilin flüoressensiyası və qaz mübadiləsi parametrlərinin qiymətlərinin müqayisəsi də göstərdi ki, hüceyrə daxilində CO_2 -nin qatılığı (C_c) hüceyrələrarası boşluqda CO_2 -nin

qatılığına (C_i) nisbətən kiçikdir, su stresi və şoranlıq şəraitində onlar arasındakı fərq artır [Cornic et al., 1989]. Lakin, Gentry və əməkdaşları [Gentry et al., 1998] göstərmişlər ki, CO₂-nin diffuziyasına qarşı daxili müqavimət hüceyrələrarası fəzada deyil, hüceyrədaxili maye fəzada baş verir, yəni bu müqavimət yarpağın strukturundan çox da asılı deyildir. Son tədqiqatlar təsdiq edir ki, istər duz [Centritto et al., 2003], istərsə də su stresi [Flexas et al., 2002; Galmes et al., 2007 a] g_m -in azalmasına səbəb olur.

CO₂ qazının mezofilə lateral diffuziyası bu yaxınlarda öyrənilmiş və bu diffuziyanın fotosintezin məhsuldarlığı da daxil olmaqla, mühüm dəyişiklikləri induksiya etdiyi göstərilmişdir [Leaky et al., 2006; Morison et al., 2007].

Fotosintez C₄-bitkilərdə C₃-bitkilərdə olduğu kimi torpaq quraqlığının təsirinə qarşı həssasdır [Ripley et al., 2007; 2010]. Bitki yarpaqlarında torpaq quraqlığının təsirindən fotosintezin intensivliyi istər ağzıçlıqlar, istərsə də metabolik yollar vasitəsilə məhdudlaşır [Lawlor, Cornic, 2002; Medrano et al., 2002; Flexas et al., 2006; Lawlor, Tezara, 2009]. Su stresi zamanı xloroplastlarda CO₂-nin assimilyasiya qabiliyyətinin azalmasının əsas səbəbi kimi, atmosferdən fiksasiya olunan və karboksilləşmə mərkəzinə doğru daşınan CO₂-nin nəqlinin zəifləməsi göstərilir. Udulmuş CO₂-nin karboksilləşmə mərkəzlərinə daşınmasının zəifləməsi iki səbəbdən baş verə bilər. Bunlardan birincisi, atmosferdən CO₂-nin diffuziyasını həyata keçirən ağzıçlıqların bağlanması, ikincisi isə yarpağın daxilində hüceyrələrarası sahədə toplanmış CO₂-nin karboksilləşmə saytına doğru nəqlinin zəifləməsi hesab edilir [Flexas, Medrano, 2002; Chaves, Oliveira, 2004; Flexas et al., 2006 b].

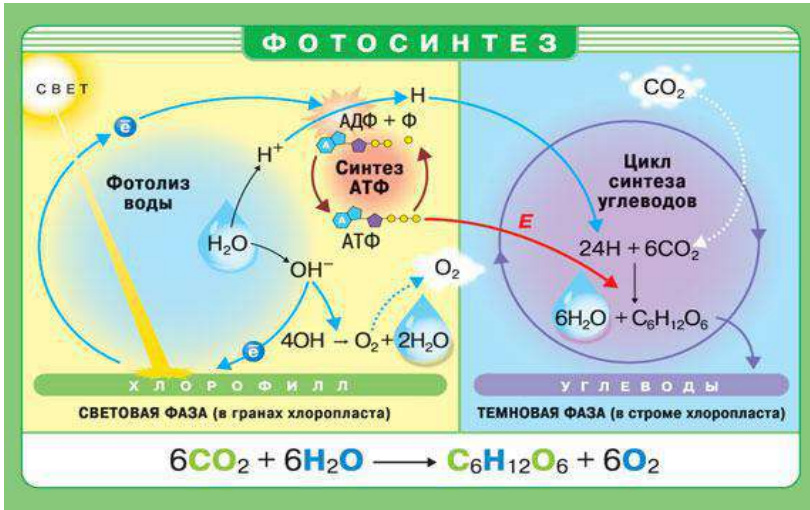
ALİ BİTKİLƏRİN YARPAQLARININ FOTOSİNTEZ FUNKSİYALARI VƏ SU STRESİ

Fotosintez, planetimizdə baş verən bioloji proseslər arasında ən önəmli yerlərdən birini tutan və ardıcıl baş verən oksidləşmə-reduksiya prosesindən ibarətdir. Fotosintezin elektron-nəqliyyat zənciri Z-sxemi üzrə oksidləşmə-reduksiya potensialının azalması ardıcılığı ilə düzülmüş FS II, FS I və digər aralıq ötürücülərdən ibarətdir [Ke, 2001; Feyziyev, 2010]. Fotosintez nəticəsində ali bitkilər, göy-yaşıl yosunlar və sianobakteriyalar işıq kvantlarının enerjisini CO₂-nin assimilyasiyası və karbohidratların (CH₂O)_n sintezi zamanı istifadə olunan kimyəvi enerjiyə (ATF) və reduksiyaedici ekvivalentlərə (NADF·H) çevirirlər [Ke, 2001; Feyziyev, 2010].

Fotosintez işıq və qaranlıq olmaqla iki mərhələdə baş verir. Fotosintezin işıq mərhələsində fotokimyəvi aparat adlanan xloroplastların tilakoid membranlarında xlorofil piqmentinin hesabına işıq enerjisinin qeyri-dövri elektron nəqli sayəsində 2 mol ATF, 3 mol NADF·H₂ (reduksiya olunmuş NADF) və 6 mol O₂ əmələ gəlir. Fotosintezin işıq mərhələsinin son məhsulu

olan $\text{NADP}\cdot\text{H}_2$ və ATF qaranlıq reaksiyalarında enerji mənbəyi kimi istifadə olunur (şək. 1.1) [Lehninger, 2008; Афанасьев, Березина, 2011].

Fotosintezin qaranlıq mərhələsi Kalvin-Benson dövrünü reaksiyaları əsasında xloroplastların stromasında CO_2 -nin fiksasiyası və karbohidratların sintezi ilə əlaqədardır. Bu proses birbaşa işıq tələb olunmadığından “qaranlıq reaksiyaları” adlanır. Quruda yaşayan avtotrof orqanizmlərdə fotosintezin qaranlıq reaksiyalarının substratı, yəni karbon mənbəyi rolunu, əsasən, ağızcıq hüceyrələri vasitəsi ilə atmosfərdən udulan qeyri-üzvi CO_2 molekulu oynayır. Bundan başqa, bitki metabolizmi zamanı aralıq substrat və yaxud katabolizmin son məhsullarının tərkibinə daxil olan CO_2 -nin bir hissəsi də refiksasiya olunaraq fotosintez orqanlarına göndərilməklə karbon skeletinin yaranmasında iştirak edir. Bioloji oksidləşmənin son məhsullarından biri olan CO_2 -nin qalan hissəsi ağızcıqlar vasitəsi ilə ətraf mühitə verilir. Bu prosesdə iştirak edən fermentlərin əksəriyyəti suda həll olurlar [Süss et al., 1995].

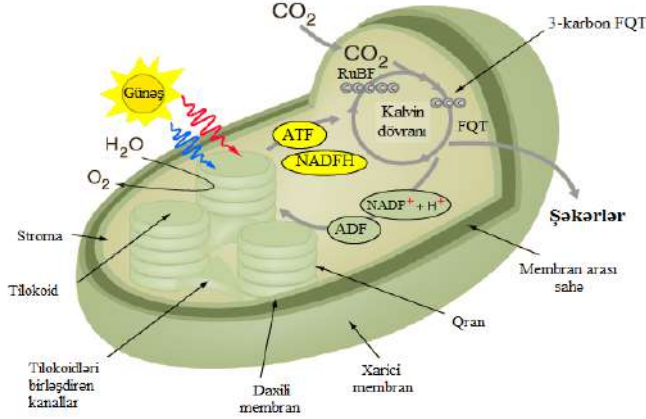


Şəkil 1.1. Fotosintezin eksperimental olaraq iki fazaya ayrılmasının sxematik təsviri. *Solda:* işıqda tilakoidlərdə ATF və NADPH_2 əmələ gəlir. *Sağda:* xloroplastlarda lokalizasiya olunan fermentlər qaranlıqda CO_2 -ni CH_2O -ya reduksiya etmək üçün ATF və $\text{NADP}\cdot\text{H}_2$ -ni oksidləşdirirlər [saytdan].

C₃- BİTKİLƏRİN YARPAQLARININ QURULUŞ VƏ METABOLİK XÜSUSİYYƏTLƏRİ

Məlumdur ki, CO_2 -nin fotosintetik assimilyasiyasının ilk davamlı məhsullarının tərkibindəki karbon atomlarının sayından asılı olaraq bitkiləri C_3 -, C_4 - və CAM olmaqla üç qrupa bölürlər [Sage, 2004; Furumoto et

al., 2007]. CO₂-nin fiksasiyasında yalnız Calvin-Benson dövründən istifadə edən bitkiləri C₃-bitkilər adlandırılır. C₃-bitkilərdə Calvin-Benson dövrünün ilkin mərhələsində atmosferdən diffuziya olunaraq Rubisko fermentinin reaksiya mərkəzinə daşınan CO₂ RuBF-lə reaksiyaya daxil olaraq 2 molekul üçkarbonlu birləşmə olan 3-fosfoqliserin turşusunu (3-FQT) əmələ gətirir. Məhz buna görə də bu bitkiləri C₃-bitkilər adlandırılır. Bundan sonra 3-FQT ATF və NADF iştirakı ilə 3-fosfoqliserin aldehidinə (3-FQA) reduksiya olunmaqla metabolizmi davam etdirirlər [Gennidakis et al., 2007]. Calvin-Benson dövrünün birinci fermenti olan Rubiskonun oksigenaza aktivliyi fototənəffüsə yol açdığından, fotosintezin fotoinhibirləşmədən qoruyur [Osuna et al., 1999]. Buna baxmayaraq fototənəffüs zamanı CO₂-nin ayrılması nəticəsində fiksasiya olunan CO₂ itkisi baş verdiyindən C₃-bitkilərdə CO₂-nin fotosintetik assimilyasiyasının effektivliyi azalır. Bu azalma yüksək temperatur və quraqlıq mühitində daha da artır. Rubiskonun katalitik aktivliyinin, biosintezinin, CO₂-yə qarşı həssaslığının artırılması [Wilbur, Anderson, 1948; Whitney et al., 2009; Whitney et al., 2011], stres zamanı fermentin inhibirləşmədən qorunmasının [Carmo-Silva, Salvucci, 2011], yüksək işıq şəraitində aktivləşməsinin, tənzimləyici xassələrinin, fotosintezin sürətinin və bitkilərin məhsuldarlığının artırılmasının elmi əsasını təşkil edir [Portis, 2003]. Calvin-Benson dövründə intermediatların tükənməməsi üçün onların xərclənməsi və regenerasiyası arasında tarazlığın saxlanılması bu proseslərdə iştirak edən fermentlərin katalitik aktivliyinin yüksək dərəcədə tənzimlənməsi nəticəsində baş verir. Bu prosesdə metabolitlər və işıq iştirak edir [Fukayama et al., 2009]. Fotosintezin işıq və qaranlıq reaksiyalarında Rubisko tərəfindən CO₂-nin assimilyasiyası üçün reduksiya olunmuş NADF⁺ (NADFH) tələb olunur. Prosesin tənzimlənməsində xloroplastlarda sintez olunan heksozaların sitozola daşınaraq saxarozaya çevrilməsinin əsas tənzimləyici fermentləri sitoplazmatik PBF-ə və saxaroza-fosfat-sintetaza fermentləri hesab olunur. MH-də sintez olunan saxaroza simplast və apoplast yolla floema borularına daxil olaraq müxtəlif akseptor toxumalara daşır. Toxumalarda toplanan nişastanın miqdarı da Calvin-Benson dövrünün tənzimlənməsində iştirak edir [Cherniadev, Monakhova, 2001] (şəkil 1.2).



Şəkil 1.2. C₃-bitkilərdə fotosintezin sxematik təsviri [Raines, 2006]

C₃-bitkilərdə işıq-enerjisinin udulmasından tutmuş şəkərlərin sintezinə qədər bütün reaksiyalar xloroplastların tilakoid membranlarında və stromada həyata keçirilir. Yer kürəsində olan bitkilərin ~85%-i fotosintezin C₃ yolundan istifadə edir. Dənli bitkilərin əksəriyyəti – buğda, düyü, arpa, yulaf, həmçinin mühüm kənd təsərrüfat əhəmiyyətli bitkilər olan pambıq, şəkər çuğundur, tütün, ispanaq, soya və ağac bitkilərinin əksəriyyəti fotosintezin C₃ yolundan istifadə edirlər. C₃-bitkilər üçün mülayim iqlim tələb olduğundan onlarda isti və quru iqlim şəraitində fofotənəffüslə əlaqədar olaraq fotosintezin effektivliyi xeyli aşağı düşür [Furumoto et al., 2007].

C₃-bitkilər anatomik quruluşuna görə də digər bitkilərdən fərqlənirlər. Bu bitkilərin yarpaqları C₄-bitkilərin yarpaqlarından fərqli olaraq sadə quruluşa malikdirlər. C₃-bitkilərdə yarpaqlar yalnız bir növ fotosintezə malik toxumaya – MH-nə malikdirlər. Belə fotosintez mexanizminə malik olan bitkilər bugünədək mövcud olan ali bitkilərin ~90%-ni təşkil edirlər. C₄-bitkilərdə olduğu kimi C₃-bitki yarpaqlarında da taclı quruluşa oxşar struktur müşahidə olunmuşdur. Buna baxmayaraq C₃-bitki yarpaqlarında olan ÖTH-də C₄-bitkilərində olduğu kimi yüksək ixtisaslaşma getməmişdir [Hibberd et al., 2008].

Bitkilər fotosintez edərkən Günəş enerjisinin hesabına atmosferdəki CO₂-nin miqdarını azaltmaqla enerji saxlayan maddə molekullarının biosintezini üçün şərait yaradırlar. Kalvin-Benson dövrəni C₃-bitkilərin xloroplastlarında qeyri-üzvi karbonun assimilyasiya olduğu əsas yol hesab olunur və C₃-fotosintezdə CO₂-nin fiksasiyası Rubisko fermenti ilə başlayır. C₃-fotosintez bitki metabolizmində baş verən əsas mexanizmlərdən biri olub, karboksilləşmə, reduksiya və regenerasiya mərhələlərindən ibarətdir. Kalvin-Benson dövrəni 11 ferment tərəfindən kataliz olunan və ardıcıl baş verən 13 reaksiyadan ibarətdir (şəkil 1.2) [Raines, 2006].

C₄-BİTKİLƏRİN YARPAQLARININ QURULUŞ VƏ METABOLİK XÜSUSİYYƏTLƏRİ

Belə ehtimal olunur ki, C₄-bitkilər təkamül nəticəsində C₃-bitkilərdən əmələ gəlməklə tropik, quru və isti iqlimi olan ərazilərdə yaşamaq imkanı qazanmışlar [Sage et al., 2011]. Bu günə qədər elmə 30000 CAM və 250000 C₃-bitki növü məlum olduğu halda, ~7500 C₄-bitki növü məlumdur. Təqribən 90 cinsə, 18 angiosperm ailəsinə mənsub olan bütün C₄-bitkilər ən azı 62 müxtəlif yolla C₃-bitkilərdən əmələ gəlmişlər [Sage et al., 2011]. C₄-fotosintezə aid olan bitkilərin əksər növləri birləpəlilər sinfinin nümayəndələridir, onların da təqribən 50%-ni ot bitkiləri təşkil edir [Sage et al., 1999a]. Birləpəli C₄-növ bitkilərə daha çox dənli bitkilər (*Poaceae*) [Shirley, Scatena, 2011; 2015], ikiləpəli C₄-bitkilərə isə daha çox tərəçiçəklilər (*Chenopodiaceae*), amarantkimilər (*Amaranthaceae*) fəsilələri arasında rast gəlinir [Эдвардс, Уокер, 1986; Nelson et al., 2010; Sage, 2004; Muhaidat et al., 2007; Bauwe, 2010]. Bu ailələrin hamısında C₄-yol müstəqil inkişaf etmişdir. Belə ki, C₄-yolun 30-dan çox fərqli təkamül mənşəyi aşkar edilmişdir.

Qazıntılar və karbon izotopuna əsasən, alınan məlumatlar göstərir ki, C₄-sindromun ən azı 12-15 milyon, molekulyar ardıcılıqların müqayisəsinə əsaslanan hesablamalar isə C₄-fotosintezin yaşının 20 milyon ildən çox olduğunu göstərir. C₄-bitkilərin təkamülü üçün ot bitkiləri angiospermlərinin divergensiyası tələb oluna bilərdi. Son 70 milyon ilə aid qazıntılardan alınan məlumatlara görə bütün C₄-növlərə inkişaf etmiş angiosperm ailələrində rast gəlinir. Bu ailələrin əksəriyyətində cinslərin və növlərin sayı 20-40 milyon il ərzində qlobal soyuma, atmosferdəki CO₂ qatılığının azalması və quraqlıq sahələrin artması nəticəsində dəyişmişdir. Diversifikasiya dövründə C₃-florada bir sıra xüsusiyyətlərin yaranması nəticəsində bitkilərin inkişafında quraqlıq və atmosferdəki CO₂-nin azlığı şəraitində irəliləyiş baş vermişdir. Atmosferdəki karbon qazı qatılığının azaldığı zaman bu xüsusiyyətlərin bəzisi müəyyən bir takson daxilində C₄-yolun inkişaf etməsi üçün şərait yaratmış ola bilərdi. Damarların bir-birinə yaxın yerləşməsi və ÖTH təbəqəsinin genişlənməsi ilə “Krans” anatomiyanı xatırladan strukturun yaranması C₃-bitkilərdə C₄-fotosintezə keçidi asanlaşdıran aparıcı xüsusiyyətlərdən hesab olunur [Shirley, Alves, 2009; Gowik, Westhoff et al., 2011; Edwards et al., 2011; Shirley, Scatena, 2011; 2015; Shirley et al., 2015].

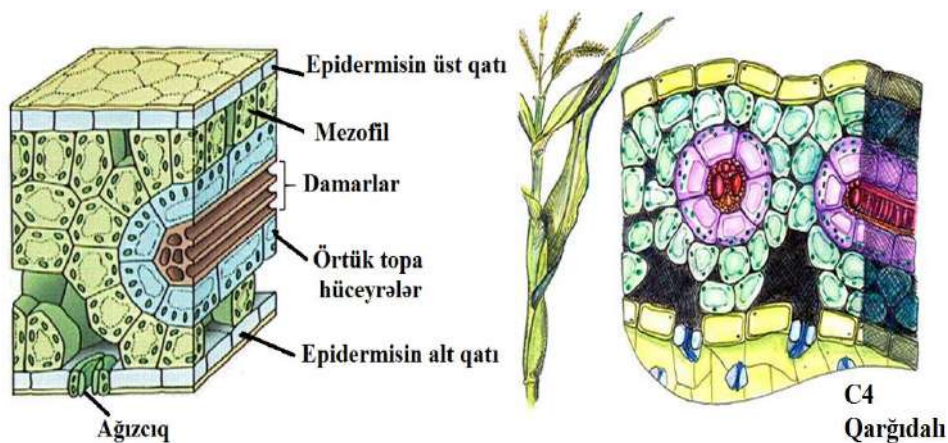
Müasir dövrdə məlum olmuşdur ki, C₄-fotosintez mexanizminə malik bütün bitkilər çiçəkli bitkilərdir. Burada, 19 çiçəkli bitki ailəsindən 16-sı ikiləpəli, 3-ü isə birləpəlidir. Bu günə qədər elə bir ali bitki ailəsi tapılmamışdır ki, yalnız C₄-bitkilərdən ibarət olsun [Рахманкулова, 2001; Akhani, Khoshravesh, 2013].

C₄-bitkilər C₃-bitkilərə nisbətən sudan və azotdan daha effektiv istifadə edirlər [Hatch, 2002; Matsuoka et al., 2001; Hibberd et al., 2008]. C₄-növlərdə, xüsusilə isti iqlim şəraitində fotosintezin effektivliyi arta bilər ki, bu da bitkinin inkişaf sürətinin C₃-bitkilərə nisbətən 50% yüksəlməsinə imkan verir. İstər məhsuldar yabanı bitkilər, istərsə də mədəni bitkilər fotosintezin C₄-yolundan istifadə edirlər [Brown, 1999].

CO₂ fotoassimilyasiyasının C₄- və CAM- yolu susuz iqlimin yerüstü ali bitkilərə təzyiqli nəticəsində meydana gəlmişdir [Edwards, Schmidt, 2010]. C₄-bitkilər yüksək işıq intensivliyi, yüksək temperatur, quraqlıq və başqa stres amillərinin təsirinə qarşı yüksək adaptasiya xassəsinə malikdirlər [Sage et al., 2011]. Bu bitkilər C₃-bitkilərlə müqayisədə daha yuxarı temperaturda yüksək fotosintez intensivliyinə malik olub, suyu daha çox qənaətlə istifadə edərək yüksək temperatura malik ərazilərdə daha çox yayılmışlar [Edwards et al., 2004]. C₄-bitkilər duz stresində fotosintezin kvant çıxımına və transpirasiyanın gedişində su itkisinin azalması göstəricilərinə görə C₃-bitkilərlə müqayisədə daha effektivdir. Bundan başqa, yarpağın morfoloji tipi olan “Kranz-anatomiya” sukkulentliyin yaranması əlamətlərinə uyğun gəlir və C₄-bitkilərin duzların təsirinə daha yaxşı uyğunlaşma imkanlarının yaranma səbəbi hesab olunur (şəkil 1.3; 1.4) [Sage et al., 2011; Sage, Zhu, 2011].

Bir çox tədqiqatlarda müxtəlif növ C₄-bitkilərin quraqlığa fərqli uyğunlaşmasını onların C₄-bitkilərin müxtəlif yarımqruplarına aid olması ilə izah edirlər [Рахманкулова, 2001]. Müəlliflər göstərir ki, qarğıdalı (*Z. mays*) amaranta (*A. retroflexus*) nisbətən daha zəif quraqlığadavamlıdır. Müəlliflər bunu qarğıdalının NADF-ME, amarantın isə NAD-ME yarımtipinə aid olmaları ilə izah edilir. Çirkov göstərir ki, amarant yarpağın vahid səthinə görə CO₂ qazının fiksasiyasını daha sürətlə həyata keçirərək sürətlə böyüyür və inkişaf edir, yüksək şoranlıq və temperatur şəraitində yüksək məhsuldarlığa malik olur [Чиркова, 1999].

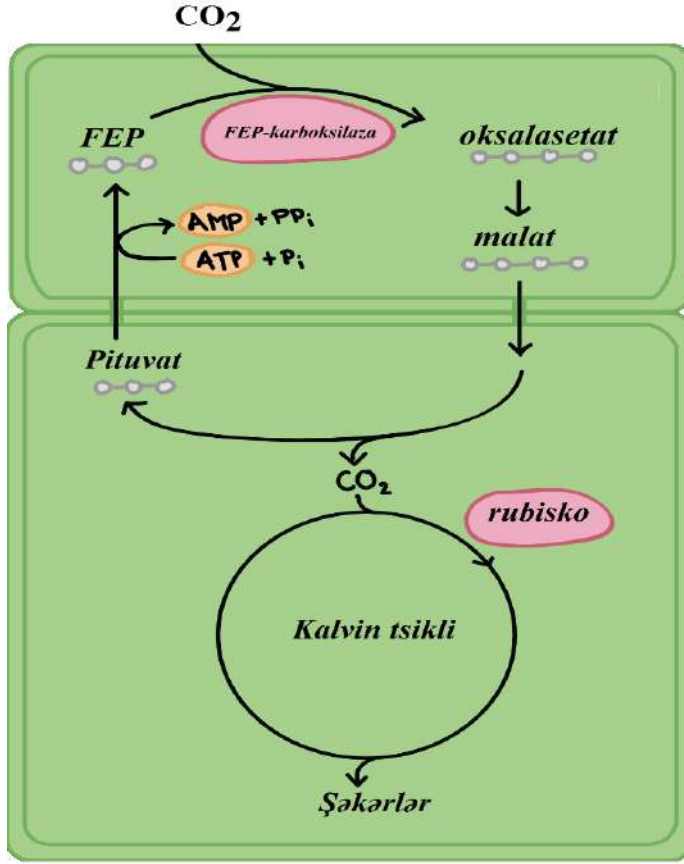
Müəyyən edilmişdir ki, C₄-bitkilərin stresin təsirinə qarşı yüksək davamlılıq xassəsi onların ferment sistemlərinin xüsusiyyətləri ilə əlaqədardır. Məsələn, FEPK (C₄-yolun əsas fermentlərindən biri) və RBFK (C₃-yolun əsas fermenti) stres zamanı C₄-bitkilərdə fotosintezin yüksək intensivliyini təmin edirlər [Edwards et al., 2011]. C₄-bitkilər C₃-bitkilərə nisbətən yüksək temperatur və işıqlanma şəraitində yüksək fotosintez intensivliyinə və məhsuldarlığına malik olurlar. Amarantda fotosintezin 12-15°C temperaturda başlamasına baxmayaraq, 50°C-dən yuxarı temperaturda da fotosintez etmək imkanlarına malikdir [Чиркова, 1999]. Qeyd olunur ki, C₃-bitkilər tam Günəş işığında CO₂-ni 1-50 mq/dm²·saat, C₄-bitkilər isə 40-80 mq/dm²·saat sürəti ilə assimilyasiya edirlər [Чиркова, 1999; Чирков, 2002].



Şəkil 1.3. C_4 -bitkilərdə yarpağın anatomik quruluşu. *Solda:* qarğıdalı yarpağının anatomik quruluşu; *Sağda:* C_4 -bitkilərdə yarpağın anatomik quruluşunun sxematik təsviri [saytdan].

C_4 -bitkilərin yüksək quraqlığa-, temperatura- və duzadavamlılığı şübhəsiz, onların fotosintez mexanizmi ilə əlaqədardır [von Caemmerer et al., 2012; Ермакова, 2005]. Məlumdur ki, C_4 -bitkilər, hətta, ağızciqlar bağlı olanda belə, yüksək fotosintez sürətinə malik olduqlarından quraqlıq və zəif qida mühitində geniş yayılmışlar [Ghannoum et al., 2003; 2009]. C_4 -bitkilər günün isti vaxtlarında ağızciqları bağlamaqla, transpirasiyanın azaldılması hesabına su itkisinin qarşısını alırlar. Amma suyun istifadə olunma effektivliyi, yəni assimilyasiya olunmuş CO_2 -nin çəkisinin transpirasiya nəticəsində buxarlandırılan suyun çəkisinə nisbəti C_3 -bitkilərlə müqayisədə C_4 -bitkilərdə iki dəfə yüksək ola bilər [Furbank, Taylor, 1995; Чиркова, 1999; Edwards et al., 2011].

Məlumdur ki, fotosintezin C_4 - və CAM yoluna aid olan bitkilər əlverişsiz mühit amillərinin (quraqlıq, duzluluq, yüksək və aşağı işıq intensivliyi, aşağı CO_2 qatılığı) təsirinə qarşı C_3 -bitkilərə nisbətən daha davamlıdırlar [Hatch, 1987; Von Caemmerer, Evans, 2010]. Müxtəlif fotosintez mexanizminə malik olan bitkilərdə karbon qazını qatılaşdıran mexanizmlərin (KQM) olması ekstremal şəraitdə karbonun yüksək fotosintetik assimilyasiyasını həyata keçirməyə imkan verir. Belə güman edilir ki, C_4 -bitkilər təxminən 100 milyon il bundan əvvəl yer atmosferində O_2/CO_2 nisbətinin kəskin artması nəticəsində C_3 -bitkilərdən əmələ gəlmişlər [Ehleringer, Monson, 1993]. Bu bitkilərdə karbon qazının qatılığının karboksilləşmə mərkəzlərində atmosfərə nisbətən dəfələrlə artması hesabına fototənəffüsün qarşısı alınır.



Şəkil 1.4. C₄ fotosintezin sadələşdirilmiş sxemi [saytda; Ghannoum, 2009]

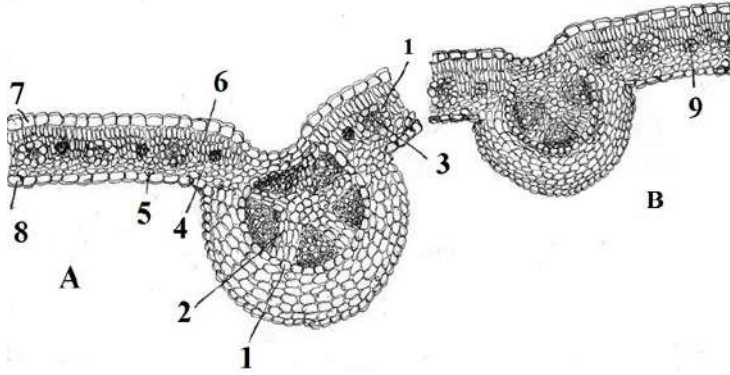
Fotosintezin C₄-yoluna aid olan bütün fermentlərin aktivlikləri C₃-bitkilərdə aşkar edilmişdir. C₃-bitkilərdə bu fermentlərin miqdarı və aktivlikləri C₄-bitkilərə nisbətən qat-qat aşağıdır. Onların fizioloji rolları haqqında elmə çox az məlumat məlumdur və C₄-bitkilərə nisbətən çox zəif öyrənilmişdir.

Təkamüldə C₃-bitkilərdən fərqli olaraq C₄- və CAM- fotosintez mexanizminə malik olan bitkilərdə stres şəraitində fototənəffüsün təsirindən qorunmaq üçün xüsusi uyğunlaşma mexanizmləri yaranmışdır [Sage, Zhu, 2011; Sage et al., 2011; 2012]. Bu mexanizmlər nəticəsində C₄-bitkilər CO₂-nin aşağı qatılığında effektiv işləmək və fototənəffüsün yaratdığı məhdudiyyətləri aradan qaldırmaq imkanları qazanmışlar. C₄-fotosintez “CO₂ nasosu” kimi fəaliyyət göstərərək Rubiskonun ətrafında CO₂ qatılığını artırmaqla onun oksigenaza aktivliyini və fototənəffüsü dəf edir [Furbank, Taylor, 1995; Furumoto et al., 2007].

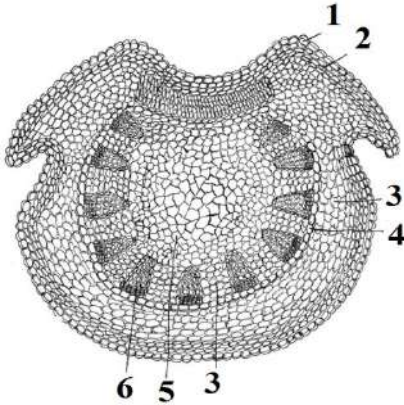
C₄-fotosintez mexanizminə malik olan bitkilər C₃-bitkilərə nisbətən yüksək məhsuldarlığa və effektiv biokütlə yaratmaq xassəsinə malikdirlər. C₄-bitkilər CO₂ assimilyasiyasının yüksək effektivliyinə, anatomik, morfoloji və biokimyəvi cəhətdən yüksək dərəcədə ixtisaslaşmış fotosintez aparatına malikdir [Hatch, 1987; Furbank et al., 2009; Byrt et al., 2011]. C₄-bitkilərin əksəriyyətində fotosintetik toxumalar ötürücü damarların ətrafında konsentrik yerləşən ÖTH və MH arasında bölünmüşdür [Hatch, 1987; Ueno, 2013]. C₃-bitkilərdə də hər iki hüceyrə tipi (MH və ÖTH) mövcuddur, lakin C₄-bitkilərdə uzunmüddətli təkamül nəticəsində daha çox ixtisaslaşmışlar. ÖTH ölçüləri artmış və xloroplastların sayı C₃-bitkilərə nisbətən dəfələrlə çoxdur (şəkil 1.3; 1.4) [Hibberd et al., 2008; Akhani et al., 2012; Akhani, Khoshravesh, 2013].

Bizim laboratoriyada amarantkimilər fəsiləsinə aid olan *Amaranthus cruentus* L. növünün vegetativ orqanlarının anatomik tədqiqat zamanı yarpaqların C₄-bitkilər üçün spesifik olan “taclı” quruluşa malik olduğu aşkar olunmuşdur (şəkil 1.5; 1.6; 1.7). Anatomik-morfoloji quruluşun tədqiqi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, *a. cruentus* yarpaqları hipostomatik tiptə olub ağızciqlar alt epidermisdə yerləşir. Yarpaqlar mezofili dorzoventral tiptə olub, assimilyasiyaedici və süngəri toxumalardan ibarətdir. Yarpaqların ötürücü sistem mərkəzi (özək, median) və yan topalardan ibarətdir. Mərkəzi topalar alt epidermis tərəfdə olan şişkinliklərdə yerləşir və floema hissəsi örtük parenximdən əmələ gəlmiş dairəyə sıxışmış beş kiçik topadan ibarətdir. Yarpağın yan topaları mezofildə yerləşməklə sıx və qapalı örtük hüceyrələri ilə ayrılmışdır [Бабаева и др., 2003; Бабаев и др., 2011].

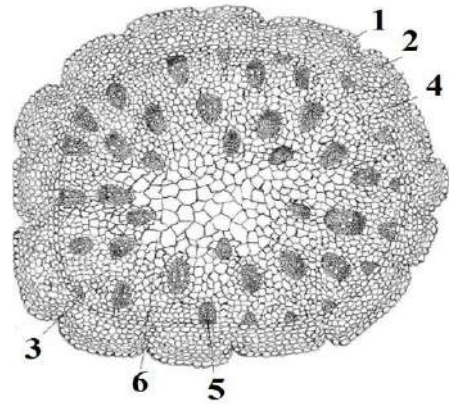
Örtük parenximi fizioloji baryer funksiyasını yerinə yetirir. Yarpaq saplağının ötürücü sistemi kollateral topalardan ibarətdir. Bunların floema hissəsi örtük parenxim hüceyrələrindən əmələ gəlmiş dairəyə sıxışmış, topaların qalan hissəsi isə saplağın parenxim toxumasına qarışmışdır. *a. cruentus* bitkisinin gövdəsinin ötürücü sistemi çoxbucaqlı hüceyrələrdən əmələ gəlmiş parenxim toxumasına daxil olan kollateral toxumanın ötürücü topalarının yaratdığı 3 dairədən ibarətdir. Birinci dairənin topaları nisbətən kiçikdir və endoderma halqasına yaxındır. İkinci dairə nisbətən böyük topalardan ibarətdir, üçüncü dairə isə gövdənin özəyini əhatə edir. Yarpağın və saplağının struktur analizinin nəticələri göstərir ki, yarpağın ötürücü elementləri hüceyrəarası heç bir əlaqəyə girmir və hüceyrələrarası elementlərdən maddələrin hərəkətini tənzim edən və fizioloji baryer funksiyasını yerinə yetirən sıx və qapalı örtük hüceyrələri ilə ayrılmışdır.



Şəkil 1.5. *Amaranthus cruentus* L. yarpaqlarının anatomik quruluşu. A-orta damar; B-yan damar (7 x 10). 1-parenxim obkladkası, 2-ötürücü sistem, 3-yan ötürücü topa, 4-süngəri toxuma, 5-ağızcıq, 6-parenxim toxuma, 7-üst epiderma parenximası, 8-alt epiderma parenximası, 9-druzlar



Şəkil 1.6. *Amaranthus cruentus* L. yarpaqlarının saplağının eninə kəsiyi. 1-epiderma; 2-kollenxima; 3-parenxima, 4-obkladka; 5-mərkəzi parenxim (özək); 6-ötürücü topalar. Böyütmə dərəcəsi: 4x10



Şəkil 1.7. *Amaranthus cruentus* L. gövdəsinin eninə kəsiyi. 1-epiderma; 2-kollenxima; 3-qabıq parenximi, 4-endoderma; 5-ötürücü topalar; 6-mərkəzi parenxim (özək). Böyütmə dərəcəsi: 5x10

C₄-bitkilərin anatomik quruluşu öyrəniləndən sonra Gardestrom və Edvards tərəfindən işlənmiş [Gardestrom, Edwards, 1983] və bizim tərəfindən modifikasiya olunmuş [Guliev et al., 2003] metodla fotosintezedici toxumalar MH və ötürücü topalar ÖTH ayrılmış və təmizlənmişdir. Alınan fraksiyaların təmizlik dərəcəsi xlorofil a və b-nin miqdarına, marker fermentlərin aktivliyinin təyininə və fotoqrafik tədqiqatlara əsasən yoxlanılmışdır.

II FƏSİL

ALİ BİTKİLƏRDƏ CO₂-nin ASSİMLİYASIYASI

ALİ BİTKİLƏRDƏ CO₂-nin ASSİMLİYASININ C₄- YOLU

Bitkilərin bir çox növlərində (əsasən, tropik, mülayim qurşağın növləri) CO₂-nin fiksasiyası zamanı alınan ilkin davamlı birləşmələr dördkarbonlu üzvi turşular – malat və aspartatdır [Sage et al., 1999; Edwards et al., 2011]. Bu tip bitkilərdə fototənəffüs ya yoxdur, ya da çox aşağı səviyyədədir. CO₂-nin fiksasiyası yarpaq səthinin vahid sahəsinə görə yüksək sürətə malik olduğundan bitkilər daha çox fotosintetik məhsuldarlıqlı olub sürətlə boy atırlar [Киризий, 1998; Кузнецов, Дмитриева, 2005; Sage et al., 1999]. Onların yarpaq toxumalarında funksional və anatomik cəhətdən bir-birindən fərqlənən iki tip fotosintez edici toxumalar – MH və ÖTH hüceyrələr mövcuddur [Рахманкулова, 2001; Эдвардс, Уокер, 1986; Edwards et al., 2011; Ueno, 2013]. Bu qrupa daxil olan bütün bitkilər üçün CO₂ fiksasiyasının FEPK ilə katalizi nəticəsində üçkarbonlu birləşmə olan FEP-in əmələ gəlməsi, onun oksalasetata, bu turşunun isə malat və aspartatın sintezinə sərf olunması xarakterikdir. Bu reaksiyalar yarpağın MH-nin sitozolunda baş verir. Onun ardınca alınan C₄-turşular ÖTH-yə daşınır, onların dekarboksilləşməsi zamanı ayrılan CO₂ Kalvin-Benson dövrəsində istifadə olunur [Эдвардс, Уокер, 1986; Gowik, Westhoff, 2011].

C₄-fotosintez ayrıca metabolik yol olmayıb, FEPK və başqa fermentlərdən istifadə etməklə CO₂-ni Rubisko ətrafında qatılaşıran bir çox biokimyəvi və struktur tənzimləmə proseslərindən ibarətdir. Bütün hallarda C₄-fotosintez FEPK tərəfindən qeyri-üzvi karbonun fiksasiyası ilə başlayır və alınan dördkarbonlu üzvi turşu hüceyrənin daxili kompartmentində yerini dəyişərək Rubiskonun lokalizasiya olunduğu yerə daşınır [Hatch, 1987; Kanai, Edwards, 1999]. Burada dördkarbonlu üzvi turşunun dekarboksilləşməsi nəticəsində alınan CO₂-nin miqdarı Rubiskonun aktiv mərkəzini doyduraçaq həddə qədər artır [von Caemmerer, 2000]. Dekarboksilləşmə mərhələsində, həmçinin üçkarbonlu üzvi turşu da əmələ gələrək geriye – FEPK-nın lokalizasiya olunduğu kompartmentə daşınır. Ehtiyac yarandıqda üçkarbonlu üzvi turşu piruvata çevrilərək fosforlaşır və yenidən FEP-i əmələ gətirir. C₄-fotosintezin istənilən tipləri üçün xarakterik olan yeganə enzimatik mərhələ FEPK vasitəsi ilə oksalasetatın sintezinə gətirib çıxaran ilkin karboksilləşmə reaksiyalarıdır. C₄-bitkilərdə fotosintezin müxtəlif yolları məhz bundan sonra baş verən biokimyəvi proseslərə görə bir-birindən fərqlənir.

C₄-sindromun kəşfi bitkilərin biokimyəvi və struktur tiplərinin öyrənilməsinə və onların ekosistemlərdə paylanmasının analizinin aparılmasına təkan vermişdir [Ueno, 2013]. Müəyyən olunmuşdur ki, C₄-bitkilər, hətta ağızcıqları bağlı vəziyyətdə olanda belə yüksək fotosintez sürətinə malik olub quraqlıq və bəsit qida mühitində geniş yayılmışlar [Ghannoum et al., 2003; 2009].

C₄-bitkilərin yarpaqlarında iki tip xloroplast müşahidə olunmuşdur: MH-də olan adi qranal xloroplastlar və ÖTH-də çox miqdarda yerləşən qranal və aqranal iri xloroplastlar. Maraqlıdır ki, bu qrupa aid olan müxtəlif bitki növlərinin ÖTH-də yerləşən xloroplastlar yalnız qranaların olmamasına görə deyil, eyni zamanda ötürücü topaların nisbətən yerləşməsinə görə də fərqlənilirlər [Эдвардс, Уокер, 1986; Gowik, Westhoff, 2011].

C₄-bitkilərin yarpaqlarının anatomik quruluşuna görə morfoloji tipləri əsasında CO₂-nin assimilyasiyası prosesinin məkanca ayrılması və Kalvin-Benson dövrəni C₄-fotosintez yoluna malik olan bitkilərə imkan verir ki, karbon turşularının fiksasiyasını, hətta ağızcıqlar qapalı olduqda belə həyata keçirə bilsin [Чиков, 1987]. FEP-in iştirakı ilə CO₂-nin fiksasiyası, malatın və aspartatın sintezi C₃-yolda fəaliyyət göstərən və CO₂-ni ÖTH-nin xloroplastlarına çatdıran özünəməxsus nasos rolunu oynayır [Рахманкулова, 2001; Gowik, Westhoff, 2011].

C₄-növlərin enzimatik qrupları CO₂-nin ilkin fiksasiyası zamanı əmələ gələn turşunun tipinə və ÖTH-də dikarbon turşularının dekarboksilləşməsinə həyata keçirən fermentə görə üç yarımqrupa (NAD-malik enzim, NADF-malik enzim və FEP-KK) ayrılırlar (şəkil 2.1; cədvəl 2.1) [Hatch, 1987; Mitsue Miyao, 2003; Carmo-Silva et al., 2007, 2008; Furbank, 2011; Tobias et al., 2008].

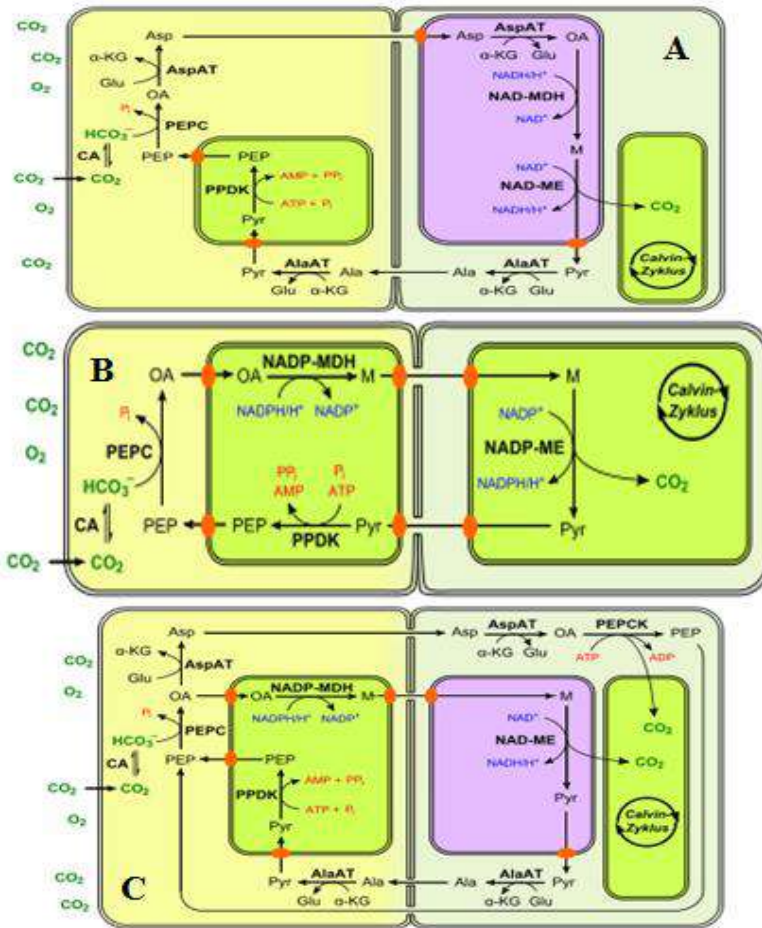
NAD-malik enzim (NAD-ME) tip C₄-bitkilərdə (şəkil 2.1 A; cədvəl 2.1) malatın dekarboksilləşməsi ÖTH-nin mitoxondrilərində lokalizasiya olunan NAD-ME fermentinin köməyi ilə həyata keçirilir. Bunlarda karbon turşularının fiksasiyasının ilkin məhsulu aspartatdır. Bu qrupa amarantkimilərin müxtəlif növləri, bostan pərpətöyünü, adi darı və s. aiddir [Hatch, 1987; Эдвардс, Уокер, 1986; Sage et al., 1999; Furbank, 2011].

NADF-malik enzim (NADF-ME) tip C₄-bitkilərdə (şəkil 2.1 B; cədvəl 2.1) malatın dekarboksilləşməsi ÖTH-nin xloroplastlarında lokalizasiya olunan NADF-ME-nin köməyi ilə həyata keçirilir. Bu qrupun tipik nümayəndələrinə – qarğıdalı, şəkər qamışı, sorqon və başqa taxıl növlərini misal göstərmək olar [Hatch, 1987; Эдвардс, Уокер, 1986; Sage et al., 1999].

FEP-karboksikinaza (FEP-KK) tip C₄-bitkilər (şəkil 2.1 C; cədvəl 2.1) aspartatın dekarboksilləşməsinə ÖTH-nin sitoplazmasında FEP-KK fermentinin iştirakı ilə həyata keçirilir, reaksiyanın məhsulu kimi FEP və CO₂ əmələ gəlir. Bu tipə darının bəzi növləri, xloric və s. aiddir. Bu qrupa

aid olan bitkilərin struktur və funksional təşkilinin müxtəlifliyi, onların ekoloji müxtəlifliyi ilə şərtlənir [Furbank, 2011].

Fotosintezin C₄-yolu 3 əsas mərhələdən ibarətdir. 1) CO₂-nin FEPK vasitəsilə MH-nin sitozoluna ilkin fiksasiyası və C₄-turşuların sintezi; 2) C₄-turşuların ÖTH-də dekarboksilləşməsi və CO₂-nin toplanması; 3) MH-nin xloroplastlarında PFDK-nın katalizatorluğu ilə CO₂-nin ilkin akseptoru olan FEP-in regenerasiyası [Hatch, 1987]. Bu proses nəticəsində, hətta stres zamanı fotosintez üçün lazım olan CO₂-nin normal qatılığı saxlanılmaqla C₄-dövrünün fasiləsiz işi təmin edilir [Rathman et al., 1977].



Şəkil 2.1. C₄-bitkilərin dikarbon turşularının dekarboksilləşmə mexanizminə görə qrupları: A - NAD-ME, B - NADP-ME və C - FEP-KK tip [Tobias et al., 2008; Oliveira Dal'Molin et al., 2016]

**C₄-fotosintezdə C₄-turşuların dekarboksilləşmə reaksiyalarının tipləri
[Hatch, 1987]**

Dekarboksilləşmənin tipləri	Kataliz olunan reaksiya
NAD-malik enzim (mitoxondri)	Malat + NAD ⁺ ↔ piruvat + CO ₂ + NADH + H ⁺
NADF-malik enzim (xloroplast)	Малат + NADF ⁺ ↔ piruvat + CO ₂ + NADFH + H ⁺
FEP-karboksikinaza (sitozol)	oksalasetat + ATF ↔ FEP + CO ₂ + ADF

C₃-bitkilər C₄-bitkilərdən fərqli olaraq yüksək fototənəffüs xassəsinə malikdirlər. Müasir dövrdə 0,038% CO₂, 21% O₂ tərkibinə malik olan atmosferdən udulan karbonun 50%-ə qədəri ətraf mühitin ekstremal amillərindən asılı olaraq fototənəffüs nəticəsində itirilir [Mueller et al., 2011]. Fototənəffüs yarpaq hüceyrələrinin xloroplast, peroksisom, mitoxondri və sitozolunda baş verən çoxmərhələli proses olub, 11 fermentlə bilavasitə kataliz olunur. Oksidativ C₂ dövrünü Rubiskonun əmələ gətirdiyi fosfoqlikolatı Kalvin-Benson dövrünün fosfoqliseratına çevirən mütəşəkkil yoldur. Ona görə ki, bu yol xloroplast, mitoxondri və bu yaxınlarda göstəriləndiyi kimi sitozolda baş verən fermentativ reaksiyaları, eyni zamanda bu orqanoidlər arasında aralıq metabolitləri və kofaktor mübadiləsini birləşdirir [Timm et al., 2008]. Rubiskodan sonra fototənəffüs reaksiyaları xloroplastların stromasında 2-fosfoqlikolatı defosforlaşdıran fosfoqlikolatfosfataza ilə davam etdirilir [Schwarte, Bauwe, 2007]. Bu zaman peroksisomların matriksinə diffuziya edən qlikolat, orada H₂O₂-nin əmələ gəlməsinə nəzarət edən qlikolatoksidaza ilə qlioksilata qədər oksidləşir. Qlioksilat ideal halda 1:1 stexiometriyası yaradan peroksisom aminotransferazalar, yəni Ser-qlioksilat və Glu-qlioksilat vasitəsilə transaminləşmə reaksiyasına daxil olur [Igarashi et al., 2003, 2006]. Mitoxondri Gly-dekarboksilazanın təsiri ilə Gly parçalanaraq məhsul kimi CO₂, NH₃, NADH əmələ gəlir və C1 vahidi 5,10-metilentetrahidrofolata ötürülür. Ser-hidroksimetiltransferaza metilen vahidini ikinci Gly molekuluna birləşdirir və Ser əmələ gəlir. Ser Ser-qlioksilat ilə transaminləşərək hidrokspiruvat əmələ gətirmək üçün yenidən yarpaq peroksisomlarına diffuziya edir. Hidrokspiruvat isə qliserat əmələ gətirmək üçün peroksisom MDH ilə əldə edilən hidrokspiruvat və NADH ilə reduksiya olunur. Nəhayət, stromal qliseratkinaza Kalvin-Benson dövrünün intermediatı olan 3-fosfoqliseratı əmələ gətirir [Reumann, Weber, 2006; Maurino, Peterhansel, 2010].

ALİ BİTKİLƏRDƏ CO₂-nin ASSİMLYASIYASININ CAM YOLU

Bitkilərdə CO₂ assimilyasiyasının üçüncü mexanizmi CAM metabolizm yoludur. CAM fotosintez isti və quraq ərazilərdə bitkilərin su ehtiyatı toplamasına imkan yaradan adaptiv uyğunlaşmadır. CAM bitkilər C₃- və C₄-bitkilərlə müqayisədə sudan daha effektiv istifadə edirlər. Belə ki, bu bitkilərdə ağızcıqların gündüz saatlarında bağlı olması, temperaturun yüksəlməsi nəticəsində transpirasiya yolu ilə baş verə biləcək potensial su itkisinin qarşısı alınır. Ali bitkilərin təxminən 6%-də CO₂-nin assimilyasiyası fotosintezin CAM yolu ilə həyata keçirilir [Gushman, Bohnert, 2002]. CAM metabolizm yolu ilk dəfə *Crassulaceae* (Dovşankələmi) fəsiləsinə aid olan növlərdə aşkar olunmuşdur [Osmond, Grace, 1995]. CAM metabolizmə malik olan bitkilərdə ağızcıqlar gecə açılır, atmosfərdən udulan CO₂, FEPK fermenti ilə fiksasiya olunaraq üzvi turşular, xüsusən də malat formasında vakuolda toplanır. Gündüz saatlarında yüksək temperaturun təsirindən ağızcıqlar bağlandığından, gecə saatlarında toplanan malat vakuoldan sitozola daşınır və orada fermentativ dekarboksilləşməyə məruz qalır. Bu zaman ayrılan CO₂ Kalvin-Benson dövrünü fermentlərinin köməyi ilə təkrar assimilyasiya olunaraq, metabolizmə qoşulur. Deməli, C₄-bitkilərdə olduğu kimi CAM-bitkilərdə də karbon qatılaşıdıran mexanizm mövcuddur [Lopes et al., 2006]. Buna baxmayaraq, C₄- və CAM bitkilərdə karboksilləşmə və dekarboksilləşmə reaksiyaları məkana və zamana görə bir-birindən fərqlənilir.

CAM VƏ C₄-BİTKİLƏRİN YARPAQLARINDA CO₂ QATILAŞDIRAN MEXANİZM

CAM metabolizmində CO₂ qatılığının Rubisko ətrafında artırılması ikiqat karboksilləşmə yolu ilə baş verir. Yəni CO₂ əvvəl FEPK, sonra isə Rubisko vasitəsilə fiksə olunur. Bu iki proses eyni toxumada, lakin fərqli zamanlarda baş verir. Gecə karbon qazını udmaq və FEPK vasitəsilə fiksə etmək üçün ağızcıqlar açılır. Udulan karbon molekulları öncə malat formasında müvəqqəti olaraq subhüceyrə quruluşlarından olan vakuollarda saxlanılır. Gündüz ağızcıqların qapanması (quruda bitən bitkilər) nəticəsində su itkisi azalır, lakin daxili karbon çatışmazlığı baş verir. Ehtiyat kimi saxlanmış malatın dekarboksilləşməsi bu çatışmazlığı aradan qaldırır. Bu proses CO₂ qazının qatılığının Rubisko ətrafında artmasına səbəb olur və nəticədə, hüceyrədaxili qeyri-üzvi karbonun miqdarı gündüz saatlarında ətraf mühitdəki səviyyədə 2-60 dəfə çox olur [Кирзизий, 1998; Lüttge, 2002].

Karbonu qatılaşıdırən ikinci mexanizm C_4 -fotosintez yoludur. C_4 -fotosintezin əsas xassəsi C_4 -bitkilərin yarpaqlarında C_3 -fotosintez yolunun ardıcıl biokimyəvi və struktur modifikasiyasından ibarət karbon qatılaşıdırən mexanizmin olmasıdır [Hatch, 1987]. C_4 -fotosintezdə çoxlu biokimyəvi və anatomik yolların olmasına baxmayaraq, ali bitkilərdə daha çox yayılan C_4 -sindroma ötürücü topalar ətrafında konsentrik vəziyyətdə yerləşən iki növ fotosintetik toxuma tiplərində (MH, ÖTH) iki fotosintetik dövrənin (C_3 və C_4) baş verməsi aiddir. C_4 -fotosintezin birinci mərhələsi MH-də CO_2 -nin bikarbonata çevrilməsi ilə gedir və FEPK-nın katalizatorluğu ilə bikarbonat FEP-lə reaksiyaya daxil olur və nəticədə C_4 -turşu olan oksalasetat (OA) əmələ gəlir. C_4 -dövrəni və C_4 -fotosintez ifadələri də məhz buradan götürülmüşdür. OA malat, aspartat, alanin kimi digər C_4 -turşulara çevrilir və sintez olunan C_4 -turşular asanlıqla ÖTH-yə daxil olaraq, dekarboksilləşmə reaksiyasına məruz qalırlar. Dekarboksilləşmədən əmələ gələn CO_2 C_3 -dövrəndə Rubisko tərəfindən fiksasiya olunur, üçkarbonlu məhsullar isə C_3 -dövrəni tamamlayaraq MH-yə daşınırlar. C_4 -bitkilərdə üzvi C_4 -dikarbon turşularının dekarboksilləşməsi yolları şəkil 1.8-də sxematik verilmişdir.

C_4 -bitkilər də ikiqat karboksilləşmə nümayiş etdirir, lakin bu mərhələlər CAM bitkilərdə olduğu kimi zamana görə deyil, məkana görə ayrı-ayrı yarpağın fərqli toxumalarında baş verir. FEPK vasitəsilə CO_2 qazının fiksə edilməsi xarici mezofildə baş verir və malat (yaxud aspartat) qalın divarlı ÖTH-yə daşınır. Burada üzvi turşu daşıyıcıları dekarboksilləşir və Rubisko ətrafında CO_2 -nin qatılığını artırır. Rubiskodan fərqli olaraq FEPK oksigen vasitəsilə inhibirləşmir və beləliklə, CO_2 nasosu kimi fəaliyyət göstərərək onu MH-dən Rubiskonun ÖTH-dəki aktiv saytına çatdırır. Bu biokimyəvi yol, adətən Krans anatomiyası (taclı quruluş) adlandırılan yarpaq strukturu ilə əlaqələndirilir. Bu strukturda xloroplastlar qabarıq ÖTH halqası şəklində damarların ətrafında yerləşmişdir. Əvvəlki ədəbiyyat məlumatlarında karbon qatılaşıdırən mexanizmi Krans anatomiyası ilə eyniləşdirmək meyilləri olsa da, hazırda istər su bitkiləri [Bouwe, 2010], istərsə də quruda yaşayan bitkilər [Voznesenskaya et al., 2001] arasında bu struktura malik olmayan C_4 -növlərə aid nümunələr göstərilmişdir.

Müasir dövrdə belə hesab edirlər ki, karbon qatılaşıdırən mexanizm 350 mln il bundan əvvəl atmosferdə CO_2 qatılığının qlobal azalması nəticəsində meydana gəlmişdir və bu prosesdə KA əsas rollardan birini oynayır. Fermentin induksiya olunan formasının yaranması ilə əlaqədar olaraq KA-nın hüceyrədə ümumi aktivliyi ilə becərmə mühitində bikarbonatın qatılığının azalması zamanı qeyri-üzvi karbonun hüceyrədaxili pulunun artması KA-nın karbon qatılaşıdırən mexanizmdə iştirakına birbaşa sübutdur [Dudoladova et al., 2007; Маркелова и др., 2009]. Karbon qatılaşıdırən mexanizm ola bilər ki, Kembri dövrünə qədər, Yer in biosferinin qlobal yeniləşməsinə –

qədərki dövrdə relikt sianobakteriyaların əcdadlarında baş vermişdir [Giordano et al., 2005; Xiao et al., 2015]. Tədqiqatçılar göstərirlər ki, Yer kürəsində fotosintez nəticəsində yaranan üzvi maddələrin təqribən yarısı mikro-yosunlar və sianobakteriyaların hesabına əmələ gəlir [Price et al., 2008].

C₃-bitkilərdə MH xloroplastlarının stromasında yerləşən karboanhidraz qeyri-üzvi karbonun assimilyasiyasında ən əhəmiyyətli rola malikdir. Fermentin ümumi aktivliyinin 10-15%-i isə hüceyrənin sitoplazmasında lokalizasiya olunmuşdur [Rumeau et al., 1996]. Ali bitkilərin xloroplast KA-sı daha çox karbon qatışdırın mexanizmdə iştirak etsə də, onun sitoplazmada lokalizasiya olunan formasının rolu hələlik dəqiq müəyyən olunmamışdır. Osmotik və duz streslərinin təsirindən KA aktivliyinin sitoplazmada artması onun öyrənilməsinə daha aktual etmişdir [Yu et al., 2007]. Ferment qeyri-üzvi karbonun hüceyrədaxili forması olan bikarbonat ionunun Rubisco fermentinin substratı karbon qazına çevrilməsini həyata keçirir. C₄-bitkilərdə KA fermentinin ən yüksək aktivliyi MH-nin sitozolunda müşahidə edilmişdir. Bu toxumada KA-nın əsas funksiyası hüceyrəyə daxil olan CO₂-ni bikarbonata çevirməkdən ibarətdir. Alınan HCO₃⁻ isə FEPK tərəfindən oksalasetatın alınması üçün istifadə olunur [Guliev et al., 2003].

III FƏSİL

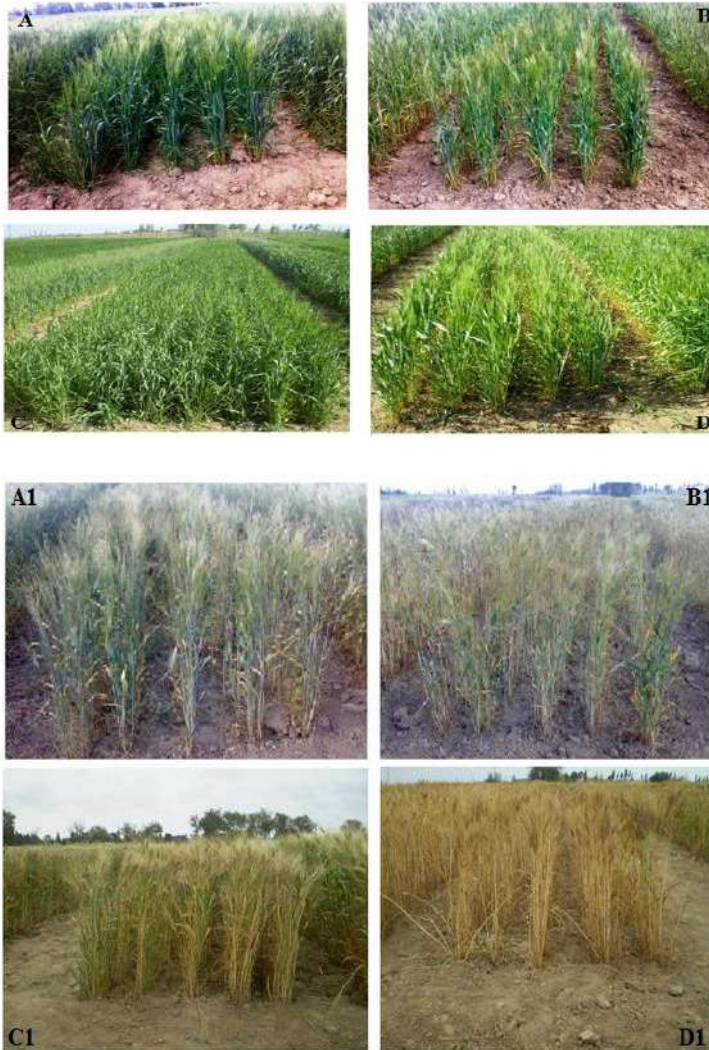
BİTKİLƏRİN STRESƏ ADAPTASIYASINDA FERMENTLƏRİN ROLU

Biokimyayın inkişafının əsas istiqamətlərindən biri canlı orqanizmlərdə həyata keçirilən metabolik proseslərin stres şəraitində tənzimolunma mexanizmlərinin öyrənilməsindən ibarətdir. Elmin bu sahəsinə aid olan problemlər arasında ferment sistemlərinin rolunun və orqanizmlərin genetik informasiyalarının reallaşmasında və ötürülməsində fəaliyyət mexanizmlərinin öyrənilməsi mühüm yer tutur. Bu nöqteyi-nəzərdən, ferment sistemlərinin strukturunun və xassələrinin, onların aktivliyinin tənzimolunma mexanizmlərinin öyrənilməsinin fundamental və praktiki əhəmiyyəti vardır [Келети, 1990; Кольман, 2004; Афанасьев, Березина, 2011; Хелдт, 2011]. Orqanizm hüceyrə metabolizminin mühit şəraitinin dəyişməsinə adaptasiyası zamanı fermentativ aktivliyin molekulyar və funksional-molekulyar səviyyələrdə tənzimolunma strategiyasından istifadə edir. Bu prosesdə orqanizmlərdə ətraf mühitin dəyişməsinə reaksiya vermək və müxtəlif mediatorların təsirinə həssas olan zülallar xüsusi yer tutur. Bitki hüceyrələrində MDH sistemi fermentləri tənzimədiçi zülallar kimi bu işdə fəal iştirak edirlər. MDH sistemi fermentləri təbiətdə çox geniş yayılmışdır [Pinheiro, Chavea, 2011] və eukariot orqanizmlərinin hüceyrələrində mürəkkəb molekulyar formalara malik olub, özünün polimorfizminə və multifunksionallığına görə heyvan və bakteriya mənşəli MDH-dən fərqlənirlər [Lance, Rustin, 1984].

Bizim tədqiqatlarda arxitektonikasına, məhsuldarlığına və quraqlığadavamlılığına görə bir-birindən fərqlənən bərk buğdanın (*Triticum durum*) Bərəkətli-95 (70-80 s/ha), Qaraqılçiq-2 (60-70 s/ha) və Qırmızı buğda (30-35 s/ha) genotiplərinin flaq yarpaqları və sünbül elementləri, eyni zamanda qeyri-ənənəvi C₄-bitki olan amarantın morfoloji, anatomik, aqronomik və başqa əlamətlərinə görə bir-birindən fərqlənən iki növü - *Amaranthus retroflexus* və *Amaranthus cruentus* L. istifadə olunmuşdur (şəkil 3.1; 3.2) [Алиев, 2006; Babayev, 2018]. Amarant (pencər) (*Amaranthus* L.) C₄-bitkilərin aspartat yarım tipinə aid olub, yüksək fotosintez intensivliyinə, karbon və azot mübadiləsində böyük effektivliyə və eyni zamanda C₃- və CAM bitkilərlə müqayisədə yüksək məhsuldarlığa malikdir.

“Amarant” sözü yunan dilindən tərcümədə “ölməz” və “solmaz” kimi iki mənanın birliyini əks etdirən “Solmayan çiçək” deməkdir. İnduslar isə onu “Ramadana”, yəni “Allah tərəfindən bəxş edilən” bitki adlandırırlar. Amarant qeyri-ənənəvi bitki kimi, nəzərdə tutulan bütün tələblərə cavab ver-

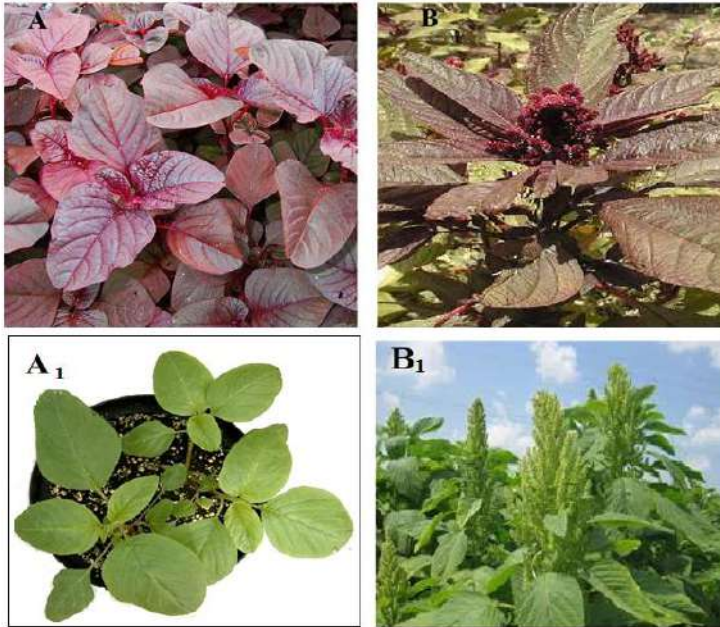
diyinə görə insanların marağına səbəb olmuşdur. Amarantın yüksək keyfiyyətini nəzərə alaraq BMT ekspertləri onu XXI əsrin qiymətli yem və ərzaq bitkisi adlandırmışlar [Конюков, Гинс, 1997]. Amarant müasir sivilizasiyanın ən qədim kulturası kimi, 8 min il ərzində Mərkəzi və Cənubi Amerika xalqlarının əsas qidasını təşkil etmişdir [Tucker, 1986]. Amarantkimilərin bostanlarda alaquotu kimi tanınan bəzi yaşıl-rəngli növlərinə Azərbaycanda pəncər deyirlər [Бабаев и др., 2003].



Şəkil 3.1. Azərbaycan Elmi-Tədqiqat Əkinçilik İnstitutunun Abşeron yarımadasında yerləşən təcrübə sahəsində təbii mühitdə əkilmiş buğdanın Bərəkətli-95 (A,B,A1,B1) və Qaraqılçiq-2 (C,D,C1,D1) genotipləri. A,C,A1,C1-suvarılan, B,D,B1,D1-quraqlıq

Amarantkimilər birillik bitkilərdir. Onların gövdələri düz və budaqlanmış formalarda olur. Amarantkimilərin təxminən 1000 növünü özündə birləşdirən 65 cinsi vardır. Onlardan 16-sı mədəni bitki kimi insanlar tərəfindən becərilir. Amarantkimilərin dekorativ, yem, qida, tərəvəz və eyni zamanda əzəclilik məqsədi ilə təsərrüfatlarda becərilən növləri vardır. Azərbaycan florasında amarantkimilərin 12 növünün olduğu müəyyən edilmişdir ki, onlardan 11-nin qida, 6-sının isə müalicəvi əhəmiyyəti vardır [Бабаева и др., 2003]. Amarantkimilər xəstəliyə, istiliyə, quraqlığa və duzadavamlı bitkilərdir. Belə yüksək bioloji keyfiyyətlərinin əsasında onun intensiv fotosintez etmək qabiliyyəti durur. Digər ali bitkilərin fotosintezindən fərqli olaraq amarantkimilərdə CO₂-nin fotosintetik mənimsənilməsi daha səmərəli olan iki dövrənlə həyata keçirilir. Nəticədə fotosintez zamanı daha çox miqdarda CO₂ assimilyasiya olunduğundan, sonda məhsuldarlıq da digərlərinə nisbətən qat-qat artıq olur [Эдвардс, Уокер, 1986].

Mədəni bitkilərin stres amillərinin təsirinə qarşı müqavimətini qiymətləndirmək və yüksək məhsuldarlığa malik genotipləri təyin etmək üçün stresə dözümlülük əmsalından istifadə edilmişdir. Stresə dözümlülük əmsalının yüksək olması həmin genotipin daha çox məhsuldarlığa malik olmasının və stresə davamlılığının göstəricisidir [Fernandes et al., 1996].



Şəkil 3.2. *A. cruentus* L. (tünd-qırmızı amarant, A,B) və *A. retroflexus* L. süpürgəvari amarant, A₁,B₁; 40 günlük-A, A₁ və aylıq-B, B₁ bitkilər

A. cruentus L. (tünd-qırmızı amarant) adventiv növdür. Vətəni Mərkəzi Amerikadır. Ona tez-tez bağlarda, bostanlarda, yolların kənarında, tarlalarda və digər sahələrdə rast gəlinir. Ondan insanlar daha çox dekorativ məqsədlər üçün istifadə edirlər (şəkil 3.2) [Бабаев и др., 2010].

A. retroflexus L. (süpürgəvarı amarant). Adventiv növdür. Vətəni Şimali Amerikadır. İlk dəfə XIX əsrin 70-ci illərində Zaqafqaziyada, XX əsrin əvvəllərində isə Azərbaycanda yayılmağa başlamışdır. Yüksək məhsuldar və davamlı alaq bitkisidir. Ona bağlarda, bostanlarda, yolların kənarında və digər yerlərdə tez-tez rast gəlinir (şəkil 3.2) [Бабаев и др., 2010].

AMARANT YARPAQLARINDAN MH, ÖTH-nin VƏ ONLARIN SUBHÜCEYRƏ FRAKSİYALARININ AYRILMASI VƏ TƏMİZLƏNMƏSİ

Məlum olduğu kimi, C₃-bitkilərdən fərqli olaraq C₄-bitkilər iki növ assimilyasiyaedici, yəni fotosintezedici toxumaya (MH və ÖTH) malikdirlər. Bu iki növ toxumanın yarpaqlarda yerləşməsi onların yerinə yetirdikləri funksiyalara uyğun olub, xüsusi anatomik görünüş əmələ gətirir ki, bu görünüş də anatomik kəsiklərdə taca bənzədiyinə görə “taclı” quruluş adlandırılır. İlk olaraq amarant yarpaqlarının C₄-bitkilərə məxsus “taclı” quruluşa malik olub-olmamasını öyrənmək üçün Makeyev üsulu [Makeeva, 1948] ilə yarpaqların anatomik quruluşu tədqiq olunmuşdur. Bu zaman müvəqqəti və daimi preparatlar, mikroskopik kəsiklər Prozina üsulu ilə hazırlanmışdır [Прозина, 1980]. Tədqiqatlar МКИ-3, МБИ-6, МПИ-5 işıq mikroskoplarında aparılmış, yarımşematik şəkillər PA-4, PA-6 aparatlarının köməyiylə yerinə yetirilmişdir. Nəticədə amarant yarpaqlarının da digər C₄-bitkilərdə olduğu kimi “taclı” quruluşa malik olduğu aşkar olunmuşdur (şəkil 1.5-1.7). Tədqiqatlar 40-50 günlük (şəkil 3.2) bitkilərlə aparılmış, MH və ÖTH-nin ayrılması üçün Edvards və b. [Gardestrom Edwarde, 1983] hazırladığı üsul bizim tərəfimizdən obyektə uyğun modifikasiya olunaraq istifadə edilmişdir [Guliev et al., 2003].

Ayrılan MH və ÖTH-nin təmizlik dərəcəsi xlorofil *a* ilə *b*-nin nisbətinə, marker fermentlərin aktivliyinə görə (FEPK, RBFK, PEPK/RBPK) və fotoqrafik üsulla yoxlanılmışdır (cədvəl 3.1). MH və ÖTH-nin mikrofotoları Ortoplan (“Zeitz”, Almaniya) mikroskopu və 60•2,5 dəfə böyüdən Ortomat fotonasadkanın köməyi ilə aparılmışdır. Mikroskopik preparatlar asetokarmin boyağı əlavə etməklə Prozina üsulu ilə hazırlanmışdır [Прозина, 1980].

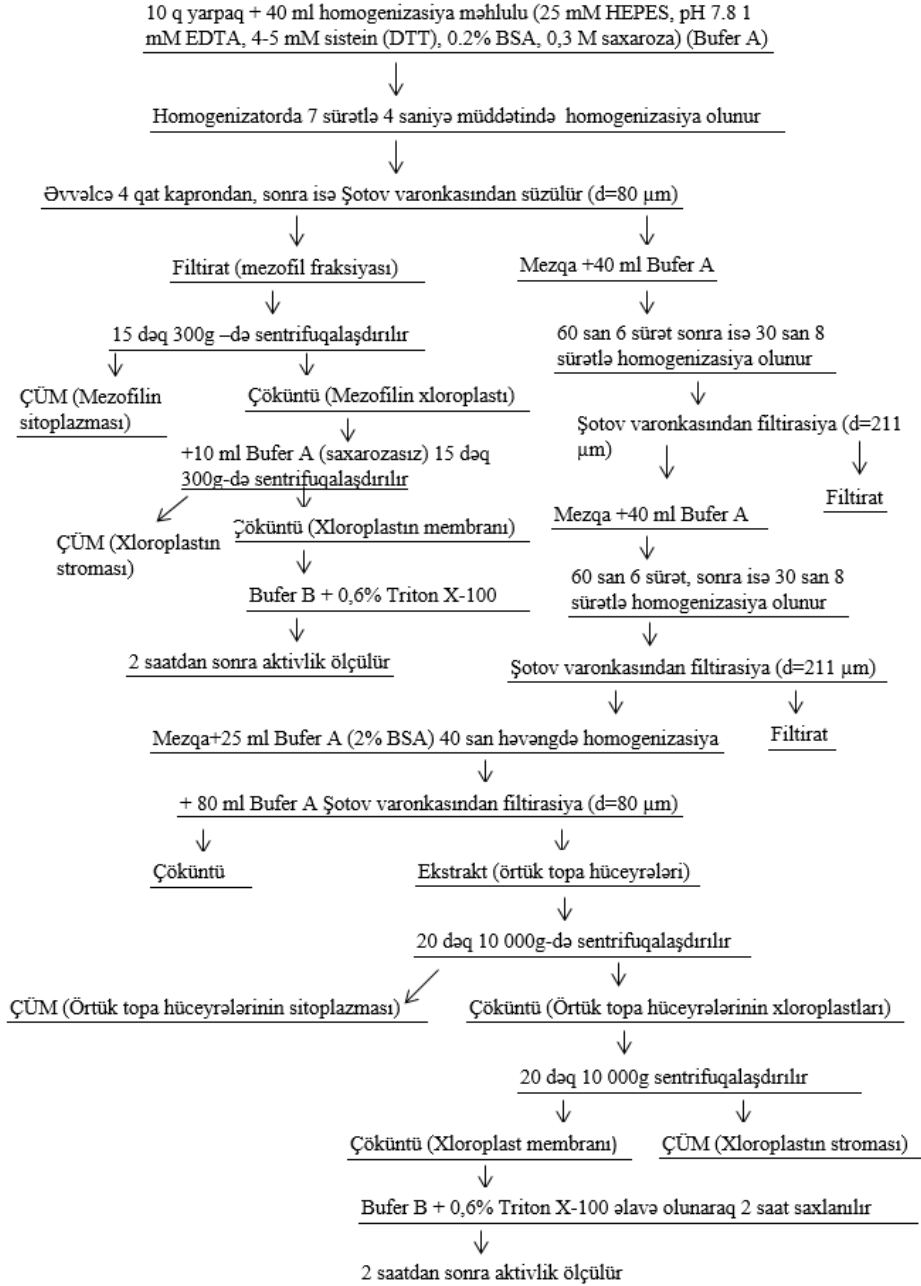
Amarant yarpaqlarında xlorofil a və b-nin miqdarı (mq/ml), FEPK və RBFK fermentlərinin aktivliyi (mkmol CO₂·mq⁻¹·dəq⁻¹)

Obyekt	Tam yarpaq	MH-nin xloroplastları	ÖTH-nin xloroplastları	Toxuma tipi	
				MH	ÖTH
Xlorofil a	17,48	18,53	19,7	-	-
Xlorofil b	5,75	6,68	6,85	-	-
Xlorofil a/b	3,0	2,8	2,9	-	-
FEPK	-	-	-	2,064	0,10
RBFK	-	-	-	0,210	3,05
FEPK/RBFK	-	-	-	9,83	0,033

Məlumdur ki, C₄-bitkilər C₃-bitkilərdən bir çox əlamətlərinə görə fərqlənirlər. Bunlara stres amillərinin təsirinə qarşı davamlılığı, yüksək biokütlə və dən məhsuldarlığının olması, metabolik yolların mürəkkəbliyi, arid və ekoloji kasıb ərazilərdə geniş yayılma potensialının olması və eyni zamanda yarpaqların mürəkkəb anatomik quruluşa malik olmasını misal göstərə bilərik. Bizim tədqiqat obyektini kimi götürdüyümüz amarant bitkisi isə, digər C₄-bitkilərdə olan ümumi əlamətlərlə yanaşı, bir sıra fərdi xüsusiyyətlərə də malikdir. O geniş növmüxtəlifliyinə (ərzaq, yem, dekorativ, tibbi, əlaqotu kimi tanınmış növləri vardır), yüksək tibbi əhəmiyyətə, quraqlığa və şoranlığa davamlılığa malik olduğundan bizim tədqiqatlarımızda model bitki kimi istifadə olunmuşdur. Assimilyasiyaedici toxumalar və onların subhüceyrə fraksiyalarının ayrılması 3.1 və 3.2 sxemi üzrə aparılmışdır.

Sxem 3.1

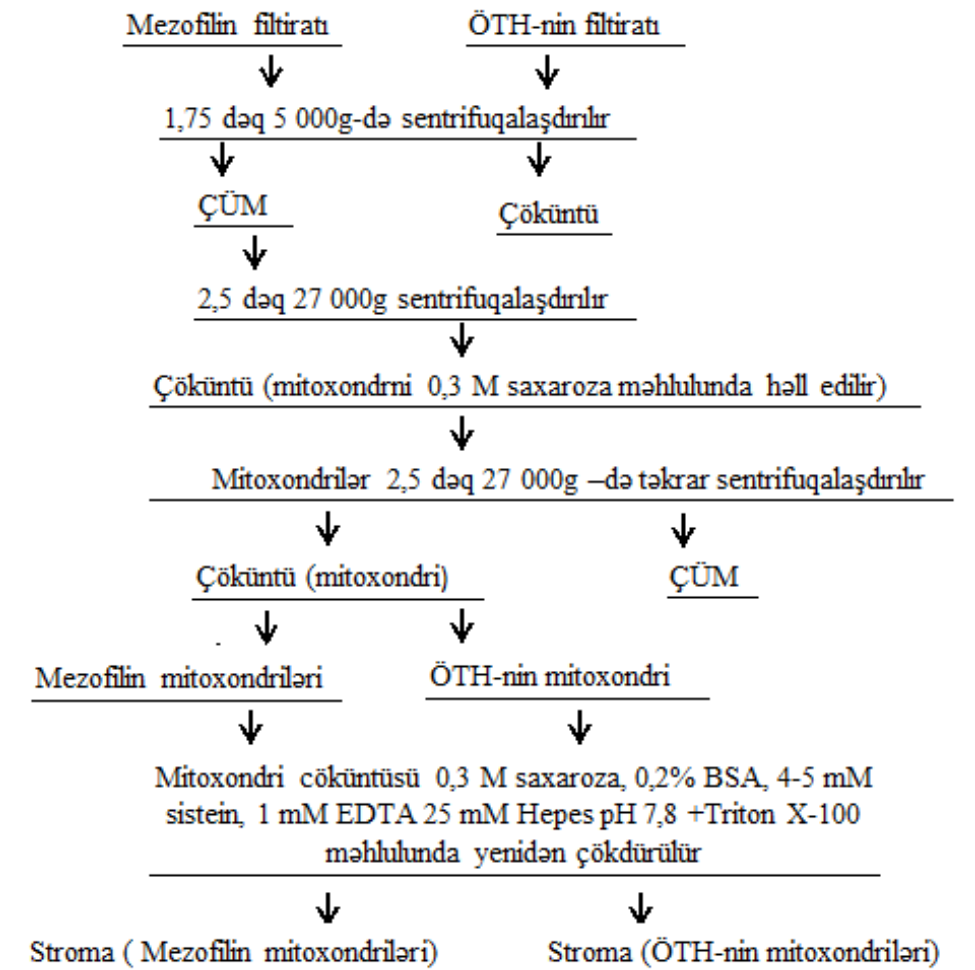
Amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-nin və onların subhüceyrə fraksiyalarının ayrılması və təmizlənməsi



Amarant yarpaqlarının assimilyasiyaedici toxumalarından mitoxondri-
ləri ayırmaq üçün sxem 3.1-də göstərilədiyi kimi, alınan MH və ÖTH-nin
filtratları sxem 3.2-yə uyğun olaraq bir neçə ardıcıl əməliyyat nəticəsində
dəyişkənliyə məruz qalmış və sonda MH və ÖTH-nin mitoxondri-
ləri və sub-
mitoxondrial fraksiyaları (stroma və membran) əldə olunmuşdur.

Sxem 3.2

*Amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-dən mitoxondri-
lərin ayrılması*



BUĞDA YARPAQLARINDAN MEZOFİL HÜCEYRƏLƏRİNİN VƏ ONLARIN SUBHÜCEYRƏ FRAKSİYALARININ AYRILMASI VƏ TƏMİZLƏNMƏSİ

Buğda genotiplərinin yarpaq hüceyrələrindən mitoxondrilərin ayrılması və təmizlənməsi Hongun işləyib hazırladığı və bizim tərəfimizdən obyektə uyğun olaraq modifikasiya olunmuş üsulla yerinə yetirilmişdir [Hong, 2004]. Hər bir təcrübə zamanı 6 q buğda yarpağı götürülmüş, onun üzərinə 1 q yarpağa 7 ml olmaqla homogenizasiya məhlulu (A buferi) (1:7, m:v) (0,05 M, pH-7,8; Tris-HCl buferi, əlavə olaraq 0,5 M saxaroza, 5 mM EDTA, 0,01 M KCl, 0,5 mM MgCl₂, 0,1% BSA, 1% PVP və 0,05% sistein) əlavə edildikdən sonra həvəngdəstədə alınan yarpaq homogenatı dördqat kaprondan süzüləndən sonra parçalanmayan hüceyrə fraqmentlərindən və nüvə hissəciklərindən azad olmaq üçün 3 dəq 2000g-də centrifugalasdırılmışdır (PK 131R, UK). Çöküntü atılmış, supernatantda olan mitoxondrilər isə 10 dəq 20000g-də çökdürülmüşdür. Tərkibində orqanoidlər olan çöküntü fraksiyası tərkibində sistein olan ayırma buferi vasitəsi ilə yuyulmuş və 10 dəq 20000g sürətilə yenidən çökdürülmüşdür. Alınan mitoxondrilər tərkibində 0,5 M saxaroza; 0,1% BSA və 0,6% Triton X-100 olan 0,05 M; pH-7,8; Tris-HCl məhlulu (B buferi) ilə resuspenziya olunmuşdur. Mitoxondrilərin ayrılması 30 dəq ərzində başa çatmış və alınan submitoxondri fraksiyaları ilə tədqiqatlar davam etdirilmişdir.

RİBULOZO-1,5-BİSFOSFAT-KARBOKSİLAZA

Ribulozo-1,5-bisfosfatkarboksilaza (RBF-karboksilaza, RBFK, EC 4.1.1.39) D-ribulozo-1,5-bisfosfatın karboksilləşməsi reaksiyasını kataliz edir və reaksiyanın son məhsulu – iki molekul 3-FQT əmələ gəlir. Bu ferment ilk dəfə 1954-cü ildə Quayle və əməkdaşları tərəfindən kəşf olunmuşdur [Quayle et al., 1954]. Sonralar bu fermentin D-ribulozo-1,5-bisfosfat + O₂ = 3-fosfo-D-qliserin turşusu + fosfoqlükon turşusu reaksiyasını kataliz etdiyi də məlum olmuşdur. Fermentin ikili xassəsini (karboksilaza və oksigenaza aktivliyini) nəzərə alaraq onu RBFK/O, yaxud Rubisko kimi də adlandırırlar [Ludwig, 2011].

Ribulozo-1,5-bisfosfatkarboksilaza/oksigenaza (Rubisco) canlı aləmdə ən çox rast gəlinən zülal olmaqla yarpaqdakı ümumi və həllolan zülalların 30-50%-ni təşkil edir [Ennahli, Earl, 2005]. Yarpaqlarda karbon qazının ağızçıqlar vasitəsilə udulması mütləq su itkisi ilə müşayiət olunduğu üçün Rubisko, həmçinin sudan istifadə effektivliyinin də əsas təyinedicisi hesab olunur. Bəzi tədqiqatçılar Rubiskonun C₃- və C₄-bitkilərdə fotosintezin sürətini məhdudlaşdıran əsas amil olduğu haqqında müəyyən nəticələrə gəlmişlər [Sage, 2004].

Rubiskonun aktivlik potensialının yüksək olmasına baxmayaraq, bitki-

lər maksimal məhsuldarlığa nail olmaq üçün onun imkanlarından maksimum faydalana bilməmişlər. Görünür bu xüsusiyyət, fermentin ikili xassəyə malik olması ilə əlaqədardır. Bu problemin aradan qaldırmağın əsas yolu fermentin karboksilaza aktivliyini, yəni onun oksigenə nisbətən CO₂-yə həssaslığını artırmaqdan ibarət ola bilər [Parry et al., 2011; 2013]. Müxtəlif növlərdə bu spesifikliyin yaradılması ilə əlaqədar çoxlu məlumatlar əldə olunmuşdur. Məsələn, stres şəraitinə uyğunlaşmış *Limonium* cinsindən olan bitkilərdə Rubiskononun karbon qazına görə spesifikliyinin bir çox dənli bitkilərdə olan formalara nisbətən daha yüksək olduğu qeyd olunmuşdur [Galmes et al., 2011; 2014]. Son tədqiqatlar CO₂ qatılığının artması ilə bitkilərdə ümumi məhsuldarlığın artması arasında müsbət korrelyasiyanın olduğunu göstərir. Bu arqumentlər fotosintezin sürətinin məhsuldarlığa müsbət təsir göstərə biləcəyi fikrini təsdiq edir [Zhu et al., 2010].

Laboratoriyamızın əməkdaşları tərəfindən aparılan təcrübələr zamanı RBFK-nın aktivliyi 50 mM Tris-HCl buferində (pH 7,8), aktivator kimi 0,01 M Mg²⁺ ionları, kofaktor kimi isə 0,25 mM NAD·H iştirakı şəraitində spektrofotometrik (Ultrospec 3300 pro, Amersham, USA) üsulla ölçülmüşdür [Романова, 1980]. Akademik С. Əliyev və əməkdaşları müəyyən etmişlər ki, buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında KA, RBFK aktivlikləri paralel olaraq dəyişir. Buna görə də belə fikrə gəlmişlər ki, flaq yarpaqlarında bu fermentlər bir-biri ilə rəziləşdirilmiş fəaliyyət göstərməklə, yüksək aktivliyə malik FEPK fermenti ilə birlikdə intensiv buğda genotiplərində yüksək dən məhsulunun yaranmasına səbəb olurlar [Алиев и др., 1985; 1988].

FOSFOENOLPİRUVAT-KARBOKSİLAZA

Fosfoenolpiruvat-karboksilaza (FEPK, ortofosfat: oksaloasetat karboksilaza (fosforlaşdırıcı, EC 4.1.1.31) C₄- və CAM- bitkilərdə karbonun assimilyasiyasının birinci fermenti olmaqla, OA və qeyri-üzvi fosforun əmələ gəlməsi ilə nəticələnən FEP-in β-karboksilləşməsi reaksiyasını kataliz edir [Vidal, Chollet, 1997]. FEPK substrat olaraq qeyri-üzvi karbonun bikarbonat (HCO₃⁻) formasından istifadə edir [Doubrenova, Ruslava, 2011]. Fermentin aktivliyi *in vivo* şəraitdə Mg²⁺, *in vitro* şəraitdə isə Mn²⁺ və Co²⁺ bivalent metal ionlarının iştirakından asılıdır [Murammatsu et al., 2015].

FEPK ali bitkilər, yosunlar və mikroorqanizmlərdə geniş yayılmaqla, hüceyrələrinin sitozolunda lokalizasiya olunmuşdur. FEPK paxlalı bitkilərin kök yumrularında, bakteriyalarda, yosunlarda, ali bitkilərin fotosintez və qeyri-fotosintez toxumalarının sitozolunda rast gəlinən fermentdir [Vance, Gantt, 1992]. FEPK C₃-, C₄- və CAM-növlər də daxil olmaqla bütün bitkilərdə geniş yayılmaqla MH-nin sitozolunda lokalizasiya olunmuşdur. O C₄- və CAM-fotosin-

tezdə CO₂-nin ilkin fiksasiyasında açar fermenti rolunu oynayır.

FEPK-nın aktiv forması homodimer olub, mühitin pH-dan, ion gücündən, temperaturdan və fosfoenolpiruvatın (FEP) qatılığından [Willeford, Wedding, 1992] asılı olaraq monomer və dimer formalara keçə bilərlər.

Məlumdur ki, bakteriyalarda və C₃-bitkilərdə FEPK-ya az miqdarda bütün orqanlarda təsadüf olunur və o karbon metabolizmində çox mühüm fizioloji funksiyaları həyata keçirir. Bir çox hallarda qlükoneogenez və CO₂-nin qeyri-avtotrof fiksasiyası, C₃-bitkilərdə Krebs dövrünün ketotürşülərlə təmin edilməsi funksiyalarını yerinə yetirməklə anaplerotik funksiya daşıyır [Latzko, Kelly, 1983]. FEPK-nın əsas funksiyalarından biri də amintürşülərin biosintezi zamanı karbon skeletinin yaranmasında karbon mənbəyi kimi OA-nı Krebs dövrünə nəqlini həyata keçirməkdən ibarətdir [Huppe, Turpin, 1994]. Azot metabolizmi ilə FEPK aktivliyi arasında da müsbət korrelyasiya müşahidə olunmuşdur. FEPK ali bitkilərdə karbon və azot metabolizmində mühüm rol oynayır [Zhanghua Hu et al., 2015].

FEPK aktivliyi müxtəlif səviyyələrdə tənzim olunur. O allosteriklik xassəsi göstərir. Qlükoza-6-fosfat bu fermentin pozitiv, L-malat isə neqativ effektorudur. Bu effektorlar FEPK aktivliyini sitozolun fizioloji pH-na uyğun gələn suboptimal qiymətlərində tənzim edirlər. Bundan başqa bitki FEPK-ları konservativ serin qalığının əks fosforlaşması yolu ilə də tənzim olunur [Nimmo, 2003]. FEPK-nın fosforlaşmış forması fosforlaşmamış formasından kataliz etdikləri reaksiyanın maksimal sürəti, FEP-ə yaxınlığı və allosterik effektora qarşı həssaslığı kimi kinetik parametrlərinə görə fərqlənirlər ki, bunlar da fermentin aktivliyinin L-malatla inhibirləşməsi və qlükoza-6-fosfatla aktivləşməsi imkanını verir [Nimmo, 2003].

Əməkdaşlarımız öz tədqiqat işlərində 0,01 M Mg²⁺, 0,0001 M EDTA, 0,01 M merkaptotanol tərkibli pH-8,3; 50 mM Tris-HCl buferi tətbiq etməklə spektrofotometrik üsulla FEPK aktivliyini tədqiq etmişlər. Müəyyən etmişlər ki, nut yarpaqlarında FEPK fermentinin aktivliyinin 92%-i hüceyrənin sitozol, cəmi 2,7%-i isə xloroplast fraksiyasında lokalizasiya olunmuşdur [Мамедов и др., 1997; Алиев и др., 1988].

Stres şəraitində FEPK-nın rolu və aktivliyinin tənzimlənməsi ilə bağlı tədqiqatların aparılmasına baxmayaraq, fermentin aktivliyinin artmasının izahı çətinlik törədir, ona görə ki, bu artım xüsusən fosforlaşma zamanı transkripsiyanın, translyasiyanın, yaxud da posttranslyasiyon modifikasiyanın artması ilə də bağlı olduğu güman oluna bilər [Doubnerova, Ruslava, 2011].

Duz və quraqlıq stresi zamanı FEPK aktivliyinin artmasının adaptasiya üçün nə kimi əhəmiyyətə malik olması, hələlik tam izah olunmamışdır. Buna baxmayaraq, fərz edilir ki, o ağızcıqların keçiriciliyinin zəiflədiyi dövrdə tənəffüs zamanı ayrılan CO₂-ni yenidən metabolizmə qoşmaqla və

CAM- fotosintezdə olduğu kimi ağızcıqlar gecələr açıq olduqda CO₂-nin fiksasiyasını sürətləndirməklə karbon metabolizmini sürətləndirə bilər [Car-mo-Silva, Salvucci, 2013].

Elmi ədəbiyyatlarda stres şəraitində PEPK fermentinin prolinin artmasına səbəb olması haqqında fikirlər mövcuddur [Cherniadev, Monakhova, 2001]. Belə bir nəzəriyyə var ki, FEPK və ME aktivliyinin artması NADFH-in sintezini sürətləndirməklə aktiv oksigen radikallarının zərərsizləşdirilməsinə, bununla da müdafiə və bərpa prosesləri üçün zülal sintezinin artması məqsədi ilə anaplerotik funksiyanın artmasına səbəb ola bilər [Andersen et al., 2002].

KARBOANHİDRAZA

Karboanhidraza fermenti (karbonat hidro liaz, EC 4.2.1.1.) ilk dəfə 1933-cü ildə heyvan eritrositlərində [Meldrum, Roughton, 1933], 1939-cu ildə isə bitkilərin xloroplastlarında kəşf edilmişdir [Neish, 1939]. Sonrakı illərdə KA ali heyvanların və insanın, praktiki olaraq, bütün orqan və toxumalarında, onurğasızlarda, həşəratlarda, amfibilərdə, balıq və quşlarda aşkar edilmişdir [Куприянова, Пронина, 2011]. Bu ferment tədqiq olunan bütün birləpəli və ikiləpəli örtülütoxumlu bitkilərdə və mikroyosunlarda [Пронина, 2011], arxe- və eubakteriyalarda [Supuran, 2011; Куприянова и др., 2013] tapılmışdır. KA aktivliyinə, həmçinin bitkilərin kökündə və meyvələrində də rast gəlinir [Алиев, Гулиев, 1990; Diamantopoulos et al., 2013; Babayev, 2018].

Müxtəlif mənşəli KA-lar yalnız strukturuna görə deyil, həm də lokalizasiya olunduğu yerə görə bir-birindən fərqlənirlər. Aparılan tədqiqatlar zamanı müəyyən edilmişdir ki, KA ali bitki hüceyrələrinin membran sistemlərində və sitozolunda [Алиев, Гулиев, 1990; Guliev et al., 2003], xloroplast, mitoxondri və karboksisom kimi hüceyrə kompartmentlərində [Yu et al., 2004] lokalizasiya olunmaqla müxtəlif fizioloji rola malikdirlər [Алиев и др., 1996; Wu et al., 2006].

KA-nın fotosintez, tənəffüs, C_i birləşmələrinin və ionların nəqlində, C₃- və C₄-bitkilərdə KQM-də, kalsiumlaşma [Xiao et al., 2015] və hüceyrənin turşu-qələvi balansının tənzimi kimi fundamental proseslərdə iştirakı sübut olunmuşdur [Lu et al., 2011]. KA-nın bitki hüceyrələrində funksional rolundan biri də hüceyrə ilə ətraf mühit, toxuma ilə hüceyrədaxili boşluqlardakı CO₂ (C_i) axınının tənzimlənməsində iştirak etməklə quraqlığın təsirinə adaptasiyanın yaranmasına kömək etməkdən ibarətdir [Sun et al., 2014; Ludwig, 2012; Di Fiore et al., 2015].

KA C₃-bitkilərdə Rubiskonun, C₄- və CAM- bitkilərdə isə FEPK-nın CO₂ ilə təmin olunmasını asanlaşdırır [Tiwari et al., 2006]. Ali bitkilərdə Rubiskonun CO₂ ilə təmin olunmasına əsaslanan fotosintetik karbon qatılaş-

dıran mexanizm inkişaf etmişdir. Karbon qatılaşıdıran mexanizmdə ən vacib rollardan birini CO_2 və HCO_3^- ionunun bir-birinə çevrilməsini həyata keçirən KA fermenti oynayıq [Алиев и др., 1985; Алиев и др., 1988; Иванов и др., 2007].

Sitozolda lokalizasiya olunan KA kartof yarpaqlarında həll olmuş KA-nın ümumi miqdarınının 13%-ni təşkil edir. O oktamer quruluşa malik olub, 255 kDa molekul çəkiyə malikdir. Hər bir subvahidin molekul çəkisi 27 kDa-a bərabərdir [Rumeau et al., 1996].

Halhazırda məlum olan KA-lar aminturşu ardıcılığının müxtəlifliyinə əsaslanan altı müstəqil sinfə bölünürlər: α , β , γ , δ , ϵ və ζ . Bu fermenti kodlaşdıran ayrıca gen ailəsi mövcuddur. Müxtəlif siniflərə aid olan fermentlərin aminturşu ardıcılıqları arasında heç bir homologiya yoxdur. Buna görə də belə hesab edilir ki, onlar təkamüldə bir-birindən asılı olmadan əmələ gəlmişlər [Ludwig, 2011; Dudoladova et al., 2004; Пронина, 2011; Wei-Hong et al., 2014].

α -KA onurğalılarda [Meldrum, Roughton, 1933], yosunlarda [Fujiwara et al., 1996], ali bitkilərdə və eubakteriyalarda [Chirica et al., 2001] yayılmışdır. Bu izoformanın monomerləri 30 kDa molekul çəkiyə malik olub, ən azı 3 histidin qalığından ibarətdir. α -KA məməlilərdə də aşkar edildiyi üçün bu sinif təkamül cəhətdən ən gənci hesab olunur [Rowlett, 2010].

β -KA tədqiq olunan bütün ali C_3 - və C_4 -fotosintez mexanizminə malik olan birləpəli və ikiləpəli bitkilərdə, o cümlədən sianobakteriyalarda [Fukuzawa et al., 1992], mikroyosunlarda [Eriksson et al., 1996], göbələklərdə [Gotz et al., 1999] tapılmışdır. KA-nın bu formasına ali bitkilərdə KA-nın əsas xarakter əlaməti kimi baxılır. Molekul çəkiliəri növdən asılı olaraq 42-220 kDa arasında dəyişir. β -KA *Flaveria bidentis*də kökdə, yarpaqda və çiçəkdə ekspressiya olunmuşdur [Ludwig, 2012]. Bakteriya və Arxeylərdə müşahidə olunan β - və γ -KA-lar daha geniş yayılmış və daha qədim hesab olunurlar [Куприянова, Пронина, 2011; Rowlett, 2010].

γ -KA arxebakteriyalarda, yosunlarda [Klodmann et al., 2010], eubakteriyalarda və bitkilərdə [Newman, 1994] kəşf olunmuşdur. Belə mülahizə olunur ki, γ -KA nüvə geni vasitəsilə kodlaşdırılır, sonra isə ferment mitoxondirilərə nəql olunur.

δ -KA bəzi diatom yosunlarda aşkar olunmuşdur [Roberts et al., 1997].

ϵ -KA bakteriyalarda rast gəlinmiş, eukariotlarda isə müşahidə olunmamışdır [Tanaka et al., 2008].

ζ -KA protistlərdə müşahidə olunmuşdur. Fəal mərkəzlərində Zn^{2+} -i Cd^{2+} və Co^{2+} metalları əvəz etmişdir [Lane et al., 2005].

KA-nın müxtəlif siniflərinə aid olan zülallar fəza strukturuna görə bir-birindən fərqlənirlər. α -sınıf KA-lar, əsasən, monomer [Supuran, 2004], γ -KA-lar isə trimer struktura malik zülallardan ibarətdir [Ferry, 2010]. Tərkibinə görə ən

müxtəlif olan β -KA-lardır. Bu sinifdə dimerdən tutmuş oktamer struktura kimi zülallara rast gəlmək olar [Zimmerman, Ferry, 2008; Ferry, 2010].

İlk dəfə akademik C.Ə.Əliyev və əməkdaşları tərəfindən bitki mənşəli KA homogen şəkildə təmizlənmiş, kristallaşdırılmış və elektron-mikroskopik tədqiqatlarla fermentin dördüncü quruluşunun molekulyar modeli təklif olunmuşdur. Müəyyən edilmişdir ki, nut yarpaqları KA-sının molekul kütləsi 208 kDa-ya bərabər olub, molekul kütləsi 26 kDa-ya bərabər olan 8 identik subvahiddən ibarətdir və hər bir subvahidin fəal mərkəzində bir ədəd sink atomunun olduğu aşkar olunmuşdur [Гулиев и др., 1985].

Müəyyən edilmişdir ki, praktiki olaraq bütün KA-lar tərkibində sink olan fermentlərdir. KA fermentində hər bir zülal subvahidində bir ədəd Zn^{2+} ionu olur. α - və γ -KA-larda aktiv mərkəzdə olan Zn^{2+} hər bir sinif üçün konservativ olan üç histidin qalığı ilə koordinasiya edir [Supuran, 2011; Iverson et al., 2000]. Bəzi β -KA-larda dördlü liqand rolunu hidrokسيد ionu əvəzinə asparagin aminturşusunun qalığı oynaya bilər [Supuran, 2011; Куприянова, Пронина, 2011]. Bu halda su molekulu yenə də Zn^{2+} atomunun bilavasitə yaxınlığında yerləşir.

KA-nın belə geniş yayılması substratı olan qeyri-üzvi karbonun (C_i) canlı hüceyrələrdə vacib metabolitlərdən biri olması ilə izah oluna bilər. KA C_i daşıyıcıları kimi CO_2 və HCO_3^- -in nəqlini həyata keçirir. Bundan başqa canlı orqanizmlərdə substratı və məhsulu CO_2 və HCO_3^- olan bir neçə ferment mövcuddur. KA aktiv mərkəz yanında CO_2/HCO_3^- qatılığını bərpa edərək, yaxud CO_2/HCO_3^- məhsulunu parçalamaqla reaksiyanın gedişinə zəmin yaradır. KA bu funksiyaları yerinə yetirdiyindən çox müxtəlif bioloji proseslərdə iştirak edir [Алиев и др., 1988; Алиев и др., 1996; Куприянова, Пронина, 2011; Zabaleta et al., 2012; Fan et al., 2015].

2004-cü ildə Moskvın və b. sübut etmişlər ki, PS II özünün oksigen ayıran kompleksində KA aktivliyinə malik 33 kDa molekul çəkili zülal saxlayır [Moskvın et al., 2004; Lu et al., 2005]. Ekspressiya olunan zülalə Mn^{2+} əlavə etdikdə KA aktivliyi ən yüksək həddədəkdir. Bu o deməkdir ki, heç də bütün tilakoid KA-ları aktiv mərkəzlərində Zn^{2+} ionu olan tipik KA deyillər.

Sitoplazmatik KA-nın yüksək molekul çəkiyə malik olmasını molekulunda tranzit peptid ardıcılığının olması ilə izah edirlər. Çünki sKA nüvədə kodlaşdırılır, sintez olunur və tranzit peptid ardıcılığı hesabına sitoplazmaya daşır. Xloroplast KA-da isə buna ehtiyac yoxdur, çünki onun sintezi ilə metabolizmdəki rolu məkanca xloroplastlarla əlaqədardır. Müasir dövrdə ali bitkilərdə KA-nın adaptiv xassələri geniş öyrənilməkdədir [Романова, 2005].

Ali bitkilərdə KA-nın müxtəlif formalarının tapılması üzrə şübhə doğurmayan nailiyyətlərə baxmayaraq, onlardan hər birinin fizioloji rolunun aydınlaşdırılması, həmçinin müasir metodlardan istifadə etməklə fermentin müxtəlif formasının adaptiv xassəsinin öyrənilməsi vacib problem kimi həl-

lini gözləyir [Di Fiore et al., 2015].

Aparığımız tədqiqatlarda KA aktivliyinin xloroplastların tilakoid membranlarında lokalizasiya olunduğu da müəyyən olunmuşdur [Guliev et al., 2003]. Laboratoriyada aparılan tədqiqatların nəticələri göstərir ki, C₄-amarant bitkisinin yarpaqlarında KA-nın molekul çəkisinə, fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinə görə fərqlənən 2 forması vardır (cədvəl 3.2).

Cədvəl 3.2

Amarant yarpaqlarında KA fermentinin subhüceyrə paylanması

№	Fraksiya	Ümumi zülal, mq	Ümumi aktivlik		Xüsusi aktivlik, mkmol CO ₂ · mq ⁻¹ · dəq ⁻¹
			mkmol CO ₂ · dəq ⁻¹	%-lə	
MH					
1	Sitoplazma	212,8	619,67	61,9	2,912
2	Xloroplastların stroması	58,1	-	-	-
3	*Xloroplastların membranı	69,09	-	-	-
MH və ÖTH-nin qarışığı					
1	Sitoplazma	367,6	300,69	30,1	0,818
2	Çöküntü	86,6	-	-	-
ÖTH					
1	Sitoplazma	73,5	-	-	-
2	Xloroplastların stroması	7,63	-	-	-
3	*Xloroplastların membranı	155,92	79,21	8,0	0,508

**Triton X-100-lə işlədikdən sonra KA aktivliyi*

Fermentin ümumi aktivliyinin 92%-i MH-nin sitoplazmasında həll olmuş vəziyyətdə (251 kDa), cəmi 8%-i isə xloroplastların tilakoid membranlarında (151 kDa) lokalizasiya olunmuşlar. Fermentin hər iki formasında nativ quruluşun saxlanması və katalitik aktivliyin meydana çıxmasında əsas rol oynayan çoxlu SH-qrupları və hər bir subvahidin fəal mərkəzində bir ədəd sink atomu vardır (cədvəl 3.2) [Guliev et al., 2003]. Elə həmin laboratoriyada müəyyən olunmuşdur ki, buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında KA-nın stoks radiusu 32,25 Å, izoelektrik nöqtəsi 5,5-ə, molekulyar kütləsi isə 55 kDa-ya bərabər olan bir molekulyar forması vardır [Идаятов, Гулиев, 1988; Алиев, Гулиев, 1990].

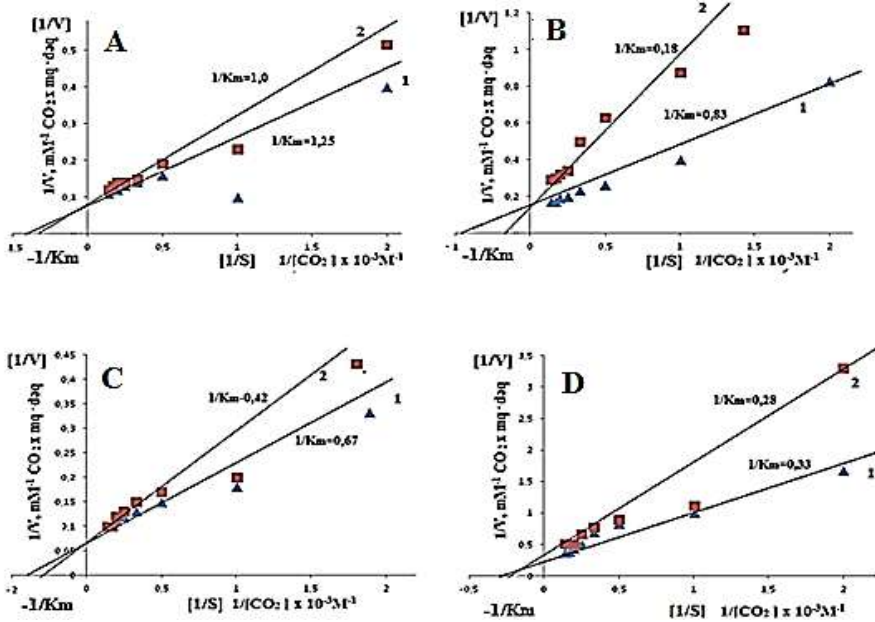
Tədqiqatlar zamanı alınan ferment ekstraktında KA aktivliyi elektrometrik üsulla Wilbur Andersona görə $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ reaksiyası nəticəsində əmələ gələn H⁺-ionlarının ayrılma aktivliyinin dəyişməsinə əsasən, kalorimetrik üsulla təyin olunmuş [Wilbur, Anderson, 1948] və fermentin aktivliyi Riskliyə görə hesablanmışdır [Rickli et al., 1964].

QURAQLIĞIN BUĞDA GENOTİPLƏRİNDƏ KA FERMENTİNİN AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Bəzi laboratoriyalarda buğda bitkisinə KA aktivliyini tədqiq etmək üçün DEAE-sellüloza üzərində iondəyişdirici xromatoqrafiya, ultrafiltrasiya, dializ, sefadeks-G-200 ilə gel-filtrasiya və s. üsulları tətbiq etməklə, yarpaq və köklərdən yüksək təmizlənmiş aktiv ferment preparatı alınmış və tədqiqatlar aparılmışdır.

Şəkil 3.3 A, B-dən görüldüyü kimi KA buğdanın Bərəkətli-95 genotipinin yarpaq və köklərində kontrol variantlarda təcrübə variantları ilə müqayisədə CO₂-nin hidratasiyası reaksiyasını K_m-in aşağı qiymətlərində yüksək sürətlə kataliz etdiyi halda, Qaraqılçiq-2 genotipində reaksiyanın V_{max}-1 Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə kiçik qiymət almışdır.

Reaksiya sürətinin substratın qatılığından asılılıq qrafiki üzrə K_m və V_{max}-ın alınmış qiymətləri hər iki genotipin yarpaqlarında ferment-substrat qarşılıqlı təsirin Mixaelis-Menten qanunauyğunluğuna tabe olduğunu göstərir (şəkil 3.3).



Şəkil 3.3. Torpaq quraqlığı şəraitində Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaq və kök sistemi hüceyrələrində KA-nın kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinin substratın qatılığından asılılığının kinetikasi. A – Bərəkətli-95 yarpaq; B – Bərəkətli-95 kök; C – Qaraqılçiq-2 yarpaq; D – Qaraqılçiq-2 kök, 1-kontrol, 2-quraqlıq

Diksonun qrafik metodu ilə [Dixon, 1953] ferment molekulunun fəal mərkəzində substratla rabitə yaradan qrupların ionlaşma əmsalı (pK_m) müəyyən olunmuşdur (cədvəl 3.3). pK_m kəmiyyətinin alınan qiymətləri hər bir fraksiya üçün bir-birinə yaxın olub, 7,43-7,5-ə bərabərdir. Buna yaxın olan yalnız histidinin imidazol həlqəsidir. Digər aminturşuların pK_m -ləri nəzərə-carpacaq dərəcədə turşu və ya qələvi zonada yerləşir. Ədəbiyyatlarda buna oxşar nəticələr müzakirə mövzusu olmuşdur [Pocker, Ng, 1973]. Amarant [Guliev et al., 2003] və nut [Алиев и др., 1986] yarpaqlarında da buna yaxın nəticələr alınmışdır. Alınan nəticələrə görə ikiləpəli C_4 -bitki olan amarant, ikiləpəli C_3 -bitki nut və birləpəli C_3 -bitki buğda yarpaqları KA-nın fəal mərkəzlərinin molekulyar təşkili oxşardır və stresin təsirindən fəal mərkəzdə ciddi dəyişkənlik baş vermir.

Cədvəl 3.3

Torpaq quraqlığının buğda genotiplərinin aktiv inkişaf mərhələlərində köklərdə, yarpaq və qılçıqda KA aktivliyinə təsirinin dəyişmə dinamikası və kataliz etdiyi reaksiyanın kinetik parametrləri

Genotip Variant, Orqan	Karboanhidraza aktivliyi				Kinetik parametrlər (Ç)			
	BÇ	S	Ç	D	K_m ,	V_{max} ,	pK_m	
Bərakətli-95	K yarpaq	0,53	1,83	2,01	1,2	0,81	2,47	7,5
				4,04	3,8			
	kök	0,44	1,02	0,91	2,1	1,23	1,63	7,43
	Q yarpaq	2,1	1,7	1,9	0,44	1,0	2,0	7,5
				2,0	1,63			
kök		1,2	1,65	2,56	2,47	5,55	0,36	7,43
Qaraqılçıq-2	K yarpaq	0,97	2,5	1,99	0,72	1,49	1,34	7,5
				2,1	1,3			
	kök	0,32	1,54	2,91	1,71	3,33	0,6	7,45
	Q yarpaq	1,55	4,53	2,4	0,97	2,38	0,84	7,5
				1,87	0,9			
kök		0,55	1,66	2,02	1,69	3,57	0,56	7,45

Qeyd: 1-KA-nın xüsusi aktivliyi (şerti vahid/mq zülal-dəq), V_{max} - mM CO_2 /mq-dəq, K_m -mM, BÇ-boruyaçıxma, S-sünbülləmə, Ç-çiçəkləmə, D-dəndolma

Ədəbiyyat məlumatlarına əsasən, məhsuldarlığına və quraqlığadavamlılığına görə fərqlənən genotiplər yalnız ilkin fotokimyəvi reaksiyalar səviyyəsində deyil, həm də karbonun ilkin fotosintetik metabolizmi, nəqli və fotoassimilyantların buğdanın müxtəlif orqanları arasında paylanmasına görə də fərqlənirlər [Алиев и др., 1996].

QURAQLIQ ŞƏRAİTİNDƏ AMARANT VƏ BUĞDA YARPAQLARINDA FOTOSİNTEZİN AÇAR FERMENTLƏRİNİN TƏDQIQI

Fermentlərin bitkilərin məhsuldarlığında, üzvi birləşmələrin sintezi və hidrolizi arasındakı əlaqələrin tənzimlənməsində əhəmiyyətli rol oynamasına baxmayaraq, quraqlıqda onların bioloji proseslərə təsirinin tənzimlənmə mexanizmlərində rolu kifayət qədər öyrənilməmişdir [Бальнокин и др., 2005; Pierre et al., 2004].

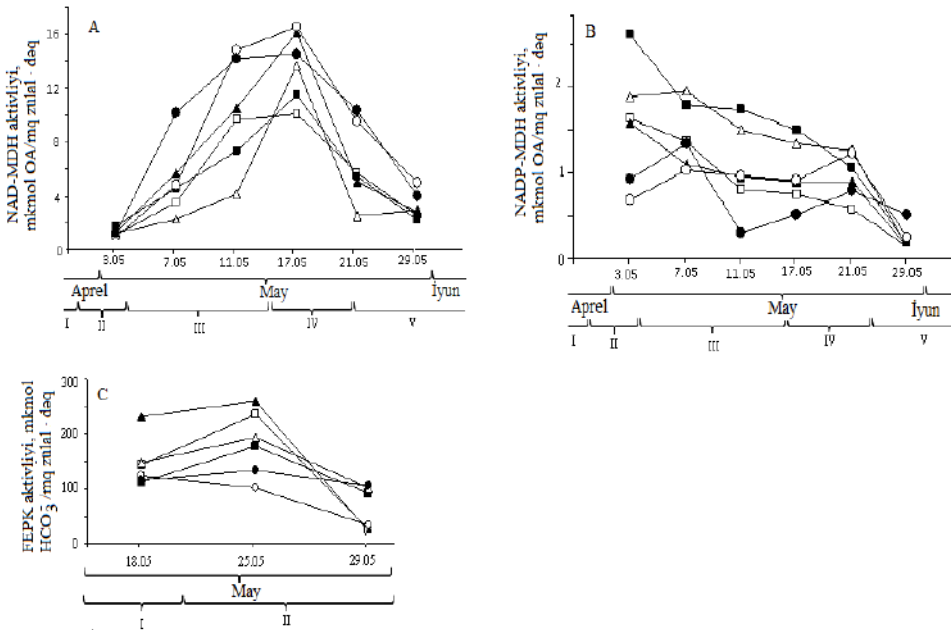
Quraqlığın qiymətləndirilməsi zamanı normal suvarılan və su stresinə məruz qalmış bitkilərdə su göstəricilərini suyun nisbi miqdarı (SNM) və su qıtlığını (SQ) təyin edərkən müəyyən olunmuşdur ki, buğda yarpaqlarında ilk quraqlıq dövründə SNM normal su təminatı olan bitkilərlə müqayisədə ~9% azalır. Quraqlıq davam etdikcə (10-cu gün) yarpaqlarda SNM-nin azalması Bərəkətli-95 genotipində 31,9%, Qaraqılçiq-2 genotipində isə 36,6% təşkil etmişdir. Bu göstəricilərin quraqlığın təsir müddəti ilə müqayisəsi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, buğda yarpaqlarında zülalların ümumi miqdarı və SNM 10-cu gün 5-ci günə nisbətən 26%-dək azalmışdır.

Belə mühitdə məhsuldarlığına və quraqlığadavamlılığına görə fərqlənən Bərəkətli-95, Qaraqılçiq-2 və Qırmızı buğda genotiplərində torpaq quraqlığının karbon və malat metabolizmi fermentlərinin aktivliklərinə təsirinin tədqiqi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, təcrübə nümunələrində NAD-MDH aktivliyi kontrollə müqayisədə 40-50% artır (şəkil 3.4 A). Bu şəraitdə quraqlığadavamlı Bərəkətli-95 genotipində, tədqiq olunan genotiplər arasında – ən aşağı, Qaraqılçiq-2 genotipində – orta, Qırmızı buğda genotipində isə – ən yüksək NAD-MDH aktivliyi müşahidə olunmuşdur. Görünür, bunun səbəbi quraqlığa davamsız genotiplərdə quraqlığın təsirindən vegetasiya müddətinin qısalması ilə əlaqədar energetik (oksidləşmə-reduksiya) proseslərə ehtiyacın artmasıdır. Çünki quraqlığın təsirindən baş verən ATF itkisi (əgər itən enerji bərpa olunmazsa) “CO₂ nasosu”nun effektiv işinin pozulması hesabına fotosintez, enerjinin yaranması kimi metabolik prosesləri zəiflədir, nəticədə stresin bitki orqanizminə mənfi təsirinin azaldılması üçün qlikolitik oksidləşmə yolunun fəallaşması baş verir.

Şəkil 3.4 B-dən görüldüyü kimi, NADF-MDH fermentinin aktivliyi suvarılan və təcrübə bitkilərinin yarpaqlarında oxşar dəyişir. Fermentin aktivliyi normal suvarılan və təcrübə bitkilərinin yarpaqlarında quraqlığın təsirindən tədricən azalmış və dəndolma mərhələsində daha da azalaraq sonda tamamilə yox olmuşdur [Babayev et al., 2013].

Uzunmüddətli torpaq quraqlığının təsirindən fotosintezin pigmentlərinin azalması xloroplast fermenti olan və aktivliyi işıqla tənzim olunan NADF-MDH aktivliyinin tədricən azalmasına səbəb olmuşdur. Buna görə

də fotosintezin işıq mərhələsinin pozulması, NADF-MDH aktivliyinin azalması və bizə məlum olmayan digər səbəblərin təsiri ilə fotosintezin qaranlıq reaksiyaları zəiflədiyindən bitki ya qeyri-normal vəziyyətdə məhv olur, ya da vegetasiya dövrünü vaxtından əvvəl başa çatdıraraq ömrünü tamamlayır [Scheibe, Stitt, 1988]. Qeyd etmək lazımdır ki, KA və NAD-MDH aktivliyinin Qaraqılçiq-2 genotipində Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə sürətlə artması və sonra KA aktivliyinin qısa zaman ərzində zəifləməsi Qaraqılçiq-2 genotipinin vegetasiya dövrünün Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə 10-15 gün tez başa çatmasına səbəb olmuşdur.



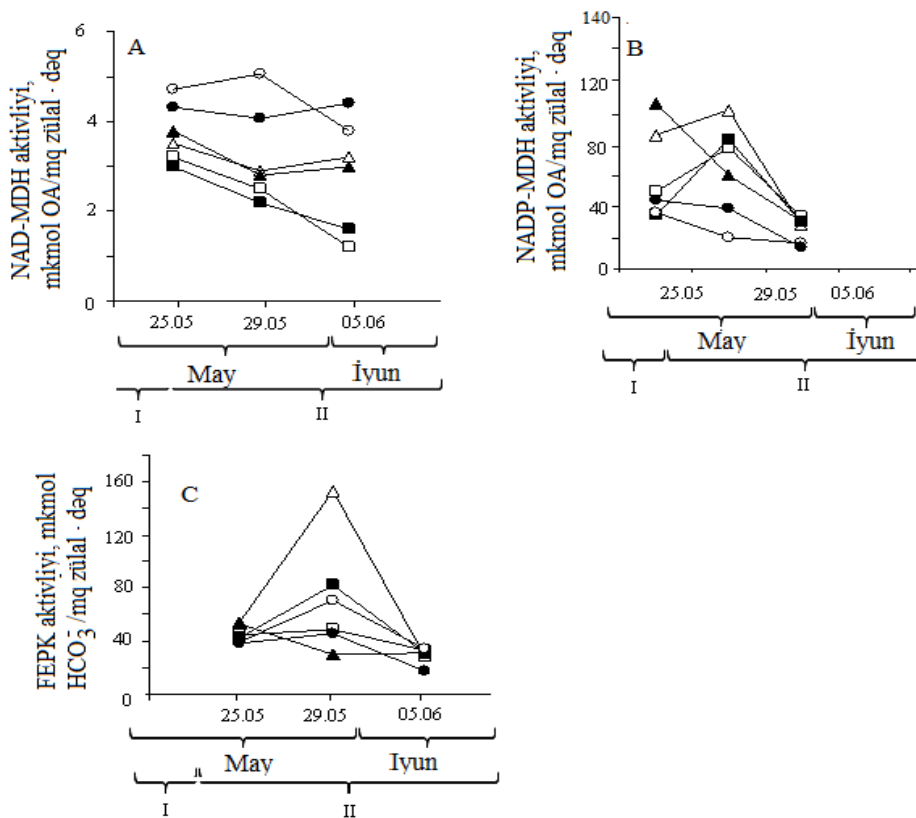
Şəkil 3.4. Torpaq quraqlığında buğda yarpaqlarında NAD-MDH (A), NADP-MDH (B) və FEPK (C) aktivliklərinin dəyişmə dinamikası. □-Bərəkətli-95 suvarılan; ■-Bərəkətli-95 quraqlıq; △ -Qaraqılçiq-2 suvarılan; ▲-Qaraqılçiq-2 quraqlıq; ○ -Qırmızı buğda suvarılan; ●-Qırmızı buğda quraqlıq. I-sünbülləmə, II-çiçəkləmə, III- südyetişmə, IV- mumiyyətişmə, V-dəndolma mərhələləri

KA aktivliyinin buğda genotiplərinin yarpaqlarında normal suvarma və torpaq quraqlığı şəraitində dəyişmə dinamikası göstərir ki, götürülən genotiplərdə ontogenezin südyetişmə mərhələsində FEPK aktivliyi nisbi sabit qalsa da inkişafın mumiyyətişmə və dəndolma mərhələlərindən başlayaraq azalır (şəkil 3.4 C).

Ədəbiyyat məlumatlarına əsasən, quraqlığadavamlı və davamsız genotiplərdə quraqlığın təsirindən CO₂ metabolizmi fermentlərinin aktivliyinin

fərqli dəyişməsi fotosintezin intensivliyinə və əmələ gələn karbohidratların miqdarına da təsir göstərir [Aliyev et al., 2006]. Quraqlığadavamlı genotiplər donor-akseptor münasibətlərinin mütəşəkkilliyi hesabına assimilyatorların orqanlar arasında daşınmasını fəal həyata keçirdiklərindən, hətta quraqlıqda da öz genotiplərini qoruyaraq yüksək məhsul verirlər. Bundan fərqli olaraq, quraqlığa davamsız genotiplərdə entropiyanın artması nəticəsində məhsuldarlıq aşağı düşür.

Yarpaqdan fərqli olaraq, Qırmızı buğdanın dənində NADF-MDH aktivliyi Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 genotiplərindən fərqli olaraq quraqlığın təsirinə azalmışdır (şəkil 3.5 B). FEPK aktivliyində isə məhsuldarlığından asılı olmayaraq, quraqlığadavamlı genotiplərin dənində hər iki variantın bitkilərində əvvəlcə aktivləşsə də sonradan azalma baş vermişdir (şəkil 3.5 C).



Şəkil 3.5. Torpaq quraqlığında buğda bitkisinin dənələrində NAD-MDH (A), NADP-MDH (B) və FEPK (C) aktivliklərinin dəyişmə dinamikası. □ -Bərəkətli-95 suvarılan; ■ -Bərəkətli-95 quraqlıq; △ -Qaraqılçiq-2 suvarılan; ▲ -Qaraqılçiq-2 quraqlıq; ○ -Qırmızı buğda suvarılan; ● -Qırmızı buğda quraqlıq. I-mumyeyişmə, II- dəndolma mərhələləri

Normal suvarma və torpaq quraqlığı şəraitində müxtəlif buğda genotiplərinin yarpaq və inkişaf etməkdə olan dənələrində FEPK fermentinin 2 mM malatla inhibirləşmə səviyyəsinin dəyişməsi göstərir ki, buğdanın quraqlığa davamsız genotiplərinin dənində FEPK-nın malata həssaslığı yüksək, digər genotiplərdə isə zəif templə baş verir (cədvəl 3.4). Quraqlığa davamsız genotiplərin yarpaqlarında isə, əksinə, FEPK-nın malata həssaslığının artmasının aşağı sürətlə getməsi dolayı yolla yarpaqlarda FEPK-nın fosforlaşmasının yüksək sürətlə getməsinə şərtləndirir, bu da başqa orqanlarla müqayisədə yarpaqlarda fermentin daha yüksək aktivliyə malik olmasına səbəb olur.

Şəkil 3.4 və 3.5-in nəticələrini müqayisə etsək, görərik ki, FEPK və NAD-MDH fermentlərinin aktivliyi quraqlığın təsirindən tam yetişməmiş dəndə artır və yarpaqdan həmişə yüksək olur. Ədəbiyyatdan məlumdur ki, xarici mühitin qeyri-əlverişli şəraitinin təsirindən, əsasən də su çatışmazlığı nəticəsində qlikoliz, Krebs dövrəni və oksidləşdirici-pentoza-monofosfat kimi metabolik proseslərdə iştirak edən fermentlərin miqdarı və aktivlikləri artır [Riccardi et al., 2000]. Bu zaman tənəffüsdə stresin təsirindən ayrılan CO₂-ni refiksasiya etmək üçün prosesdə aktiv FEPK və NAD-MDH fermentlərinin iştirakı tələb olunur. Fermentlərin aktivliyində baş verən bu artım stresin təsir gücündən, davam etmə müddətindən və ontogenezin mərhələlərindən asılıdır.

Şəkil 3.6 A, B-də müxtəlif buğda genotiplərinin dənində və yarpağında suvarılan və quraqlıq variantlarda FEPK-nın fosforlaşma dərəcəsinin dəyişməsinə aid nəticələr qrafik olaraq göstərilmişdir. Şəkildən görüldüyü kimi, Bərəkətli-95, Qaraqılçiq-2 və Qırmızı buğda genotiplərinin dənində FEPK-nın fosforlaşması quraqlığa davamsız genotiplərdə quraqlıq davamlı genotiplərlə müqayisədə yüksək olması uyğunlaşma əlaməti olub, torpaqdakı suyun miqdarı ilə tənzim olunur. Belə ki, FEPK fermentinin stresin təsirindən dəndə daha çox aktivləşməsi müşahidə olunur ki, bunu da həmin orqanda FEPK-nın fosforlaşması ilə izah etmək olar.

Cədvəl 3.4

Torpaq quraqlığında bərk buğda genotiplərinin yarpaq və dənələrində FEPK-nın 2 mM malatla inhibirləşməsi

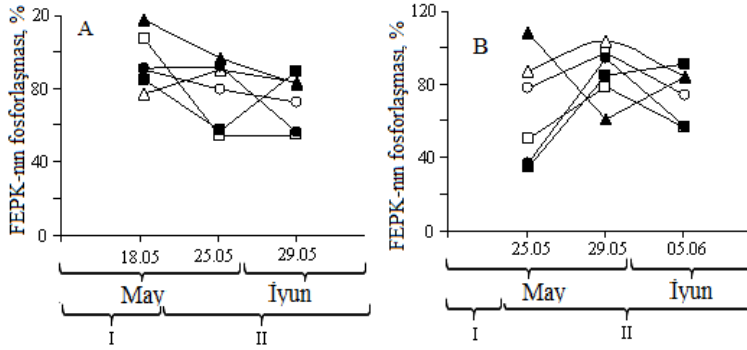
Genotip	Variant	FEPK inhibirləşməsi, %			FEPK inhibirləşməsi, %		
		18.05	25.05	29.0.	25.05	29.05	5.06
Bərəkətli-95	K	15,68	4,6	45,4	50,0	21,3	44,12
	Q	13,02	13,8	42,4	65,0	25,5	9,0
Qaraqılçiq-2	K	27,3	21,5	8,23	12,87	11,8	15,8
	Q	6,97	3,86	2,5	13,4	39,0	16,41
Qırmızı buğda	K	9,66	8,3	19,34	21,95	5,8	26,5
	Q	10,93	7,8	7,08	63,0	16,5	42,9

Müəyyən olunmuşdur ki, FEPK-nın yüksək aktivliyində malat və aspartatın sintezi sürətlənir. Buna uyğun ədəbiyyat məlumatları da mövcuddur [Чиков, 1987; Pierre et al., 2004].

Quraqlığın təsiri zamanı karbon metabolizmində baş verən dəyişkənlik ağızıqların bağlanması nəticəsində karboksilləşmə mərkəzlərində CO₂ miqdarının azalması ilə əlaqədardır [Tezara et al., 2002; Lawlor, 2002].

Alınan nəticələr göstərir ki, buğda genotiplərində tədqiq olunan fermentlərin aktivlikləri torpaq quraqlığının təsirinə məruz qalmış bitkilərdə normal suvarılan bitkilərə nisbətən həmişə yüksəkdir. Bütün bunlar ali bitkilərin yarpaqlarının karboksilləşmə mərkəzlərində KQM-in fəallaşmasına səbəb olur və nəticədə reaksiya mərkəzində CO₂-nin miqdarı artır.

Beləliklə, sahə şəraitində becərilən bitkilərin yarpaq və sünbül elementlərində torpaq quraqlığının təsirindən C₄-metabolizmi fermentlərinin aktivliyinin artması daha çox quraqlığadavamlı genotiplərdə nəzərə çarpır.



Şəkil 3.6. Torpaq quraqlığı şəraitində buğda yarpaqlarında (A) və dənələrində (B) FEPK-nın fosforlaşma dərəcəsinin dəyişməsi (%-lə). □ -Bərəkətli-95 suvarılan; ■ -Bərəkətli-95 quraqlıq; Δ -Qaraqılçiq-2 suvarılan; ▲ -Qaraqılçiq-2 quraqlıq; ○ -Qırmızı buğda suvarılan; ● -Qırmızı buğda quraqlıq. I- mumyeyişmə, II- dəndolma mərhələləri

Nəhayət alınan nəticələr göstərir ki, NAD-MDH aktivliyi quraqlığadavamlı aşağı məhsuldar buğda genotiplərində ən yüksək, quraqlığa həssas yüksək məhsuldar genotiplərdə orta, quraqlığadavamlı yüksək məhsuldar genotiplərdə isə ən aşağı qiymətə malikdir. Torpaq quraqlığında NAD-MDH və FEPK aktivliyi ən çox induksiyaya uğrayır ki, bu da onların üzvi dikarbon turşularının biosintezində əsas rol oynadığını təsdiq edir. Su stresinin təsiri nəticəsində FEPK aktivliyi NAD-MDH və NADF-MDH aktivliyi ilə müqayisədə daha az dəyişir. Bu onu göstərir ki, SQ şəraitində karbonun fotosintetik mübadiləsinin qeyri-karbohidrat yolu daha çox stabillik göstərir. NAD-MDH və FEPK aktivliyi dənin mumyeyişmə mərhələsində yarpaqlarla müqayisədə yüksək olub, dəndolma mərhələsində azalmağa başlayır. Quraqlığa həssas genotiplərdə FEPK

malata qarşı daha çox həssaslıq göstərir. Bunun əsasında da yarpaqlarda FEPK fosforlaşaraq ən yüksək aktivlik əldə edir.

Məlumdur ki, ali bitkilərin köklərində KA aktivliyinin olub-olmaması haqqında mübahisəli fikirlər vardır [Kisiel, Graf, 1972; Atkins, 1974]. Akademik C.Ə.Əliyev və əməkdaşları etiolə olunmuş noxud yarpaqlarının KA aktivliyinə malik olduğunu göstərmişlər [Алиев, Гулиев, 1990]. Bəzi tədqiqatçıların bitki köklərində kifayət qədər KA aktivliyinin olduğunu göstərməsinə [Fabre et al., 2007; Rudenko et al., 2015] baxmayaraq, bu mövzu bu gün də mübahisəli olaraq qalır.

Ali bitkilərin orqanlarında KA, karbon və malat metabolizmi fermentlərinin quraqlıqda oynadıqları rolu müqayisəli öyrənmək üçün uzunmüddətli torpaq quraqlığında becərilən Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında və sünbül elementlərində ontogenezin aktiv inkişaf mərhələlərində KA, FEPK, RBFK, NAD-MDH və NADF-MDH, köklərdə isə KA və NAD-MDH fermentlərinin aktivliklərini müqayisəli tədqiq etmişik. Müəyyən edilmişdir ki, yüksək məhsuldar genotiplər CO₂-nin assimilyasiyasını yüksək səviyyədə həyata keçirirlər. Yüksək məhsuldar genotiplərdə KA aktivliyi çiçəkləmə mərhələsinin sonundan, toxumyetişmə mərhələsinin isə əvvəlindən başlayaraq azalır. KA ilə RBFK arasında ən sıx asılılıq flaq yarpaqlarında müşahidə edilmişdir.

Laboratoriyamızda aparılan tədqiqatlar göstərmişdir ki, yüksək məhsuldar genotiplər ontogenezdə, dəndolma mərhələsi istisna olmaqla, yüksək CO₂ udma intensivliyinə malikdir. CO₂-nin assimilyasiyası və karboksilləşdirici fermentlərin aktivliyinin tədqiqi zamanı alınan nəticələr göstərir ki, bu iki proses arasında sıx korrelyasiya vardır [Гулиев и др., 1985].

Cədvəl 3.5-dən görüldüyü kimi, bitkinin inkişafının süd- və mummyetişmə mərhələlərində RBFK və FEPK aktivlikləri quraqlığın təsirindən Bərəkətli-95 genotipində sünbül elementlərində flaq yarpaqlarına nisbətən 1-1,5, Qaraqılçiq-2 genotipində isə təqribən 5 dəfəyədək azalmışdır. Bunun əksinə olaraq FEPK aktivliyi quraqlığın təsirindən dəndə, yarpaq və pulcuqla müqayisədə artmış, KA aktivliyi isə yalnız dəndə ən aşağı qiymətə malik olmuş və toxumların mummyetişmə mərhələsində yarpaq və pulcuqla müqayisədə daha da azalmışdır.

Bu mərhələdə RBFK və FEPK aktivliklərinin dəyişməsi kiçik həddə baş vermişdir. RBFK aktivliyi hər iki genotipdə, əsasən, yarpaqda və pulcuqda, FEPK isə dəndə daha yüksək aktivlik göstərmişdir. Quraqlığın təsirindən Bərəkətli-95 genotipinin dənində FEPK aktivliyində kontrollə müqayisədə ~40%, Qaraqılçiq-2-də isə ~26% artım müşahidə olunmuşdur. Hər iki genotipdə hər iki variantda dəndə NADF-MDH aktivliyinə rast gəlinməmişdir. Pulcuqla müqayisədə yarpaqda onun aktivliyi həmişə yüksək olmuş və quraqlığın təsiri şəraitində hər iki nümunədə fermentin aktivliyi ~50-100% artmışdır. Bitkinin inkişafının mummyetişmə mərhələsində tədqiq olunan bütün fermentlərin aktivliyi azalmışdır. NAD-MDH-nin fermentativ aktivliyinin azalması, digər fermentlə-

rə nisbətən zəif baş vermişdir. Burada nəzərəçarpan əsas cəhət ondan ibarətdir ki, Qaraqılçıq-2 genotipinin quraqlığa davamsız olmasına baxmayaraq, yarpaq və sünbül elementlərində NAD-MDH aktivliyi həmişə Bərəkətli-95 genotipinə nisbətən yüksək qiymət alır. Fermentin aktivliyi südyetşmə dövründə yarpaqda, dəndə və pulcuqda quraqlığın təsirindən kontrollu müqayisədə 5-6 dəfəyə-dək artmışdır. Mumyeyişmə mərhələsində, digər fermentlərdə olduğu kimi NAD-MDH-nin də aktivliyində azalma müşahidə olunmuşdur.

Gonzales və b. [Gonzalez et al., 1998] göstərmişlər ki, inkişaf etməkdə olan buğdanın dənələrində vegetasiyanın son mərhələlərinə (dəndolma) yaxın FEPK aktivliyi və mRNT-nin miqdarı azalır. Pulcuqda və yarpaqda RBFK aktivliyinin dənə nisbətən çox olması, pulcuğun və dəninin də yarpaqlarda olduğu kimi CO₂-nin fotosintetik assimilyasiyasında iştirak etdiyini göstərir.

Bu günə qədər quraqlığın təsirindən Rubisko aktivliyinin azalmasının səbəbləri və KA aktivliyi hələlək kifayət qədər öyrənilməmişdir [Flexas et al., 2004; Guliyev et al., 2008].

Holaday və b. [Holaday et al., 1992] göstərmişlər ki, bitkinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində su stresinə məruz qalmış buğdanın flaq yarpaqlarında Rubisko aktivliyi azalır və bu azalma həllolan zülalların və xlorofilin ümumi miqdarının azalması ilə müşayiət olunur. Rubisko-nun ümumi aktivliyinin quraqlıq stressi şəraitində SNM-dən asılı olaraq paralel dəyişməsinə və onun maksimal aktivliyinin həmişə yüksək olmasını ferment molekuluna möhkəm birləşmiş təbii inhibitorların olması ilə izah etmək olar.

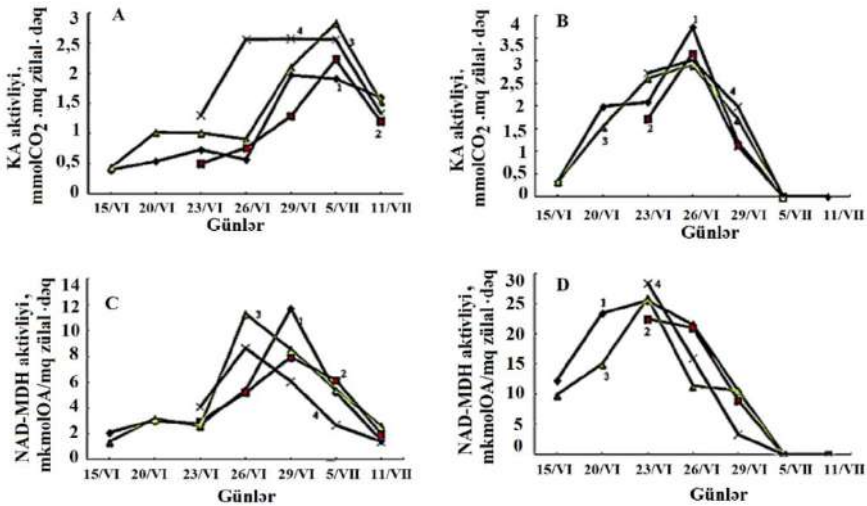
KA fermentinin C₃-bitkilərdə fizioloji rolunun tam aydınlaşdırılmamasına baxmayaraq belə hesab olunur ki, bu ferment CO₂ qazının xloroplast membranlarından daşınmasını sürətləndirərək, karboksilləşmə mərkəzlərində CO₂-nin qatılığını artırmaqla RBFK-nin effektiv işləməsinə kömək edir. KA aktivliyinin sünbül elementlərindən dəndə yarpağa nisbətən dəfələrlə aşağı olması onun yalnız CO₂-nin assimilyasiyasında iştirak etdiyini güman etməyə imkan verir. Eləcə də RBFK ilə KA aktivliklərinin buğda genotiplərində quraqlıq stressi və normal su təminatı olan variantlarda paralel olaraq artıb-azalması bu fermentlərin uzlaşdırılmış işlədiyini göstərir. Əvvəlki tədqiqatlarda RBFK ilə KA fermentlərinin aktivliklərinin və genlərinin ekspressiyasının CO₂-nin qatılığından və işığın təsirindən asılı olaraq *Chlamydomonas reinhardtii* yosununda oxşar işlədiyini göstərir [Buchanan, 1980]. NADF-MDH fermentinin aktivliyinə kökdə müşahidə olunmamış, südyetşmə mərhələsində onun aktivliyinə pulcuqda, mumyeyişmə mərhələsində isə az da olsa yarpaqda rast gəlinmişdir.

FEPK və NAD-MDH fermentlərinin aktivliklərinin dəndə yarpağa nisbətən, NADF-MDH- aktivliyinin isə yarpaqda dənə nisbətən həmişə yüksək olmasına baxmayaraq, quraqlığın təsirindən hər iki fermentin aktivliyi tam yetişməmiş dəndə artır. Buna görə qeyd etmək olar ki, quraqlıqda CO₂ balansını nis-

bi sabit saxlamaq üçün karbon metabolizmi fermentlərinin aktivliyinin yüksəlməsi C₄-turşularının sintezini artırır. Növbəti mərhələlərdə ME-lər vasitəsilə C₄-turşuların dekarboksilləşməsi baş verir və alınan CO₂ RBFK-nın substratı olmaqla, Kalvin-Benson dövrəni reaksiyalarında istifadə olunur.

Ədəbiyyatdan məlumdur ki, su çatışmazlığı nəticəsində qlikoliz, Krebs dövrəni və oksidləşdirici-pentoza-monofosfat kimi metabolik proseslərdə iştirak edən fermentlərin miqdarı və aktivlikləri artır. Bu zaman reaksiyaların gedişində torpaq quraqlığı şəraitində normal suvarılan bitkilərə nisbətən daha çox CO₂-nin ayrılması [Riccardi et al., 2000; Umeda et al., 1994] FEPK və NAD-MDH fermentlərinin daha da aktivləşməsinə səbəb olur.

Şəkil 3.7 və cədvəl 3.5-dən görüldüyü kimi eyni təcrübə şəraitində KA aktivliyi, Bərəkətli-95 genotipinin flaq yarpaqlarında quraqlığın təsiri ilə artmış, kökdə isə bunun əksinə olaraq, cüzi azalma baş vermişdir (şəkil 3.7 A). Qaraqılçiq-2 genotipində də buna oxşar nəticələr alınmışdır. Fərq yalnız ondan ibarətdir ki, bu genotipdə kökdə KA aktivliyi quraqlığın təsirindən az da olsa artmışdır (şəkil 3.7 B). NAD-MDH aktivliyinin quraqlığın təsirindən artması Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 genotiplərində yarpaqda və kökdə kontrolla müqayisədə paralel baş versə də (şəkil 3.7 C), NAD-MDH aktivliyi Qaraqılçiq-2 genotipinin kök və yarpağında hər 2 variantda Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə ~2 dəfə çox olmuşdur (şəkil 3.7 D).



Şəkil 3.7. Uzunmüddətli torpaq quraqlığının Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin inkişafının aktiv mərhələlərində flaq yarpaqlarında və köklərində KA və NAD-MDH fermentlərinin aktivliyinin dəyişmə dinamikasına təsiri. A-Bərəkətli-95 genotipində KA; B-Qaraqılçiq-2 genotipində KA; C-Bərəkətli-95 genotipində NAD-MDH; D-Qaraqılçiq-2 genotipində NAD-MDH. 1-yarpaq suvarılan; 2-yarpaq, quraqlıq; 3-kök, suvarılan; 4-kök, quraqlıq

Müxtəlif buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında, sünbül elementlərində və köklərində torpaq quraqlığının CO₂ metabolizmi fermentlərinin aktivliyinə təsiri

Genotip Variant Obyekt	Fermentlərin aktivlikləri											
	Südyetmə mərhələsi					Mumyeytəmə mərhələsi						
	KA	RBFK	FEPK	NAD- MDH	NADF- MDH	KA	RBFK	FEPK	NAD- MDH	NADF- MDH		
Bərəkətli-95	K	Y	5,8	0,14	1,17	12,7	0,24	4,1	0,11	1,54	12,62	0,02
		P	12,9	0,12	1,04	27,9	0,13	2,3	0,05	1,34	13,96	-
		D	0,14	0,06	2,0	56,0	-	0,1	0,05	1,26	14,94	-
		K	2,8	-	-	11,0	-	1,9	-	-	10,5	-
	Q	Y	8,2	0,13	2,9	76,5	0,37	6,3	0,18	0,75	24,78	0,04
		P	14,1	0,18	1,0	45,7	0,18	1,0	0,04	0,66	12,6	-
		D	0,1	0,07	2,79	82,6	-	0,1	0,02	0,09	14,51	-
		K	2,5	-	-	8,4	-	2,1	-	-	10,0	-
Qaraqılıq-2	K	Y	6,7	0,5	2,68	15,7	0,24	4,0	0,05	2,6	23,54	0,12
		P	10,3	0,14	1,07	36,4	0,16	1,8	0,012	0,58	20,97	-
		D	0,37	0,04	2,63	48,2	-	0,3	0,015	1,25	35,79	-
		K	2,9	-	-	24,0	-	2,2	-	-	23,8	-
	Q	Y	9,4	0,9	1,49	36,2	0,58	2,8	0,04	-	45,7	-
		P	7,2	0,01	1,06	51,1	0,19	1,1	0,01	1,02	24,17	-
		D	0,27	0,03	2,28	82,5	-	0,2	0,01	2,6	56,89	-
		K	3,1	-	-	29,0	-	2,7	-	-	19,2	-

Qeyd: *Y-yarpaq, P-pulcuq, D-dən, K-kök, K-kontrol, Q-quraqlıq. Fermentlərin aktivliyi-xüsusi aktivlik EU/mq zülal*

Alınan nəticələrin analizi göstərir ki, kökdə KA və NAD-MDH aktivlikləri monoton olaraq dəyişir. Quraqlığın təsirinin ilkin mərhələlərində onların aktivliyi paralel olaraq artsa da, yüksək torpaq quraqlığı şəraitində vegetasiyanın sonuna yaxınlaşdıqca onların aktivliyi tədricən azalaraq sifra yaxınlaşmışdır. Fotosintezin pigmentlərinin (xlorofil a, b) miqdarının son həddə qədər azalması da KA və NAD-MDH fermentlərinin aktivliklərinə ciddi təsir etmir.

Məlumdur ki, torpaq quraqlığının bitki orqanizmlərinə təsiri, onların kök sistemindən başlayır. Torpaqda suyun azalması kök tərəfindən udulan suyun da azalmasına səbəb olur ki, bu da yerüstü orqan olan gövdə və yarpaqda öz təsirini göstərir. Bitki su qıtlığı ilə üzləşdikdə zərər çəkməmək üçün öncə buxarlanan suyun miqdarını azaltmaq üçün yarpaqların bir hissəsini tökmək məcburiyyətində qalır. Bununla bərabər yarpağın üst epidermisində yerləşən ağızcıqlar tam və ya qismən bağlanır, yarpaqlar burulur, qatlanır və stresə məruz qalmış bitkinin metabolizmində müəyyən dəyişikliklər baş verir.

Burada, karbon metabolizmi fermentlərinin fəaliyyətinin tənzimi xüsusi rol oynayır. Torpaq quraqlığında ağızcıqlar bağlanarkən atmosferdən udulan

CO₂-nin miqdarı kəskin azaldığından Calvin-Benson dövrünü reaksiyalarının pozulması nəticəsində fotosintezin sürəti zəifləyir. CO₂ çatışmazlığını aradan götürmək və fotosintezə mühafizə etmək üçün bitki orqanizmi təkamüldə yaranan "KQM-dən" istifadə etməyə çalışır. Bu nöqtəyi-nəzərdən yarpaqda və kökdə KA aktivliyinin monoton olaraq artması tənəffüsdə əmələ gələn CO₂-ni hidrata-siya edərək CO₂-nin daşınan forması olan bikarbonat ionlarına (HCO³⁻) çevirməklə yarpaq hüceyrələrinin xloroplastlarına nəqlini təmin edir. Bitkinin kök sistemlərində KA aktivliyinin artması, çox güman ki, həm də H⁺-ATFazaların aktivliyini stimullaşdırmaqla, onları quraqlığın təsirindən qorumaqdan ibarətdir. Kökdə KA ilə birlikdə NAD-MDH fermentinin aktivliyinin artması da adaptiv xassə daşıya bilər. Güman olunur ki, o kök sistemi hüceyrələrində qlikoliz, tənəffüs zamanı əmələ gələn CO₂-nin qalan hissəsini malat və aspartat kimi C₄-turşulara çevirməklə yarpaqlara nəql edir. Yarpaqlarda isə həmin turşuların dekarboksilləşməsindən alınan CO₂ fotosintezdə istifadə olunur.

Beləliklə, tədqiq olunan fermentlərin aktivlikləri və zülalların miqdarının kontrol variantlarda dəndolma mərhələsinədək artması, bitkinin toxumların inkişafının süd- və mummyetmə mərhələlərində KA, RBFK və NADF-MDH aktivliklərinin azalması, dəndə və pulcuqda quraqlığın təsirindən FEPK və NAD-MDH aktivliklərinin isə əvvəlcə artması, sonra isə dəyişməz qalması onların fizioloji və biokimyəvi proseslərdə oynadıqları rol və sub-hüceyrə lokalizasiyası ilə bağlı olub, stresə qarşı adaptasiyanın və yüksək dən məhsulunun yaradılmasında mühüm rol oynayırlar.

Aparılan tədqiqatların nəticələri göstərir ki, uzunmüddətli torpaq quraqlığı şəraitində becərilən davamlı Bərəkətli-95 və quraqlığa davamsız Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında və pulcuqlarında KA və RBFK fermentlərinin aktivliyi paralel olaraq dəyişir. Buna uyğun olaraq buğda genotiplərinin kök sistemlərində KA və NAD-MDH fermentlərinin aktivliyinin monoton artması müşahidə olunmuşdur. Belə bir şəraitdə NADF-MDH fermentinin aktivliyinə yarpaqda çox, pulcuqda az, dəndə isə heç rast gəlinməmişdir. C₃-bitkilərdə C₄-fermentlərin olması və onların aktivliyinin bitkinin inkişafının ən aktiv mərhələlərində (südyetmə, mummyetmə) quraqlığın təsirindən artması, sonrakı mərhələlərdə isə azalması qazanılmış əlamət olmaqla, fermentlərin lokalizasiyası və fizioloji funksiyaları ilə əlaqədar onların stres şəraitində hormonik fəaliyyət göstərdiyini güman etməyə əsas verir. Bu o deməkdir ki, stres şəraitində karbon metabolizmi fermentləri ilə malat metabolizmi fermentləri funksional əlaqəyə girməklə bitkinin stresin zərərli təsirindən qorunmaq üçün fəaliyyət göstərilir. KA xarici və daxili mənşəli CO₂-ni RBFK və FEPK-nın karboksilləşmə mərkəzlərinə CO₂ və HCO³⁻ şəklində göndərsə, MDH-lər bu işi CO₂ hesabına C₄-dikarbon turşuları sintez etmək yolu ilə yerinə yetirirlər. Sonradan C₄-dikarbon turşularının dekarboksilləşməsi nəticəsində bitkilər stres şəraitində normal fotosintez etmək və yaşamaq imkanı qazanırlar.

ALİ BİTKİLƏRDƏ MALATIN (ALMA TURŞUSUNUN) METABOLİZMİ

Malatdehidrogenazlar bitkilərin ətraf mühit faktorlarına adaptasiyası zamanı metabolik yolların dəyişməsində mühüm rol oynayırlar. Bu, malat və oksalasetatın quraqlıq və duz stresinə məruz qalmış bitki hüceyrələrində osmolitlərin qatılığının dəyişməsində iştirakı ilə də bağlıdır. MDH sistemi fermentlərinin molekulyar təşkilinin mürəkkəbliyi bu ferment sistemi ilə əlaqəli olan metabolik proseslərin mürəkkəbliyi ilə şərtlənir. Birincisi, mMDH karbohidratların katabolizminin mərkəzi yolu olan Krebs dövrünün fəaliyyətini təmin edir. Həmin fermentin sitozol forması mitoxondri, xloroplast, vakuol kimi bitki hüceyrəsi orqanoidləri arasındakı qarşılıqlı təsir və onlar arasında reduksiyaedici ekvivalentlərin mübadiləsinə cavabdehdir [Lance, Rustin, 1993].

Əlavə metabolik yolların mövcudluğu hüceyrə daxilində MDH izoformaları arasında mürəkkəb dinamik tarazlığın yaranmasına gətirib çıxarır ki, bu da onların öyrənilməsini çətinləşdirir. Buna görə də, bu günə qədər bir çox elmi nəticələrin əldə olunmasına baxmayaraq, hüceyrə daxilində MDH-lərin ayrı-ayrı izoformalarının aktivliyinin tənzimlənmə imkanlarının və xassələrinin tam mənzərəsini əks etdirən model yaradılmamışdır.

Canlılar aləmində geniş yayılmış metabolitlərdən olan malat, bitki metabolizmində mərkəzi yerlərdən birini tutur [Schulze, 2002; Kim, 2004]. O üzvi C₄-dikarbon turşusu kimi elektron donoru olmaqla canlı hüceyrələrin müxtəlif orqanoidlərində yayılmışdır. Malat hüceyrənin energetik yolunun əsasını təşkil edən Krebs dövrünün vacib substratlarından biri olmaqla, C₄-bitkilərin toxumalarında qeyri-üzvi karbonun fiksasiyası mexanizmində mühüm rol oynayır [Ермакова, 2005]. Malat, kiçik molekul çəkiyə malik olması sayəsində, bitki hüceyrəsində osmotik homeostazın yaranmasında və saxlanması fəal iştirak edir [Франко, 2000]. O bir çox bitkilərdə çox miqdarda (1-100 mM) toplanmaq imkanına malik olmaqla ehtiyat funksiyasını yerinə yetirir [Епринцев, Попов, 1999; Землянухин, Землянухин, 1995; Schulze, 2002]. Xüsusi metabolizmə malik olan sukulent bitkilərdə onun miqdarı 100 mM-a çata bilər ki, bu da çox böyük göstəricidir. Müqayisə üçün deyə bilərik ki, hüceyrədə mühüm birləşmə hesab olunan FEP-in qatılığı 10-100 mkM-a bərabərdir [Latzko, Kelly, 1983].

Malat fermentativ aktivliyin inhibitorudur və çox güman ki, bəzi zülal-ların biosintezinə təsir edən amillərdən biridir. Malat kaliumla birlikdə bitki hüceyrəsinin tonoplastının keçiriciliyinə təsir edərək vakuollarda osmotik potensial yaradır. Buna görə də ətraf mühitin əlverişsiz amillərinin təsiri bitkilərdə C₄-turşuların, əsasən də, malatın (alma turşusunun) metabolizminin aktivləşməsinə səbəb olmaqla, onlara yaşamaq imkanını verir. Hazırda hüceyrənin müxtəlif orqanoidlərinin membranlarında malatın nəqlini həyata keçirən nəq-

liyyat zülallarının olduğu aşkar edilmişdir [Епринцев, Попов, 1999; Землянухин и др., 1990].

Ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, malat subhüceyrə kompartmentləri arasında baş verən bəzi metabolik proseslərin ortaq komponentidir [Kalt et al., 1990]. Malat vasitəsi ilə reduksiyaedici ekvivalentlər hüceyrənin bir kompartmentindən digərinə daşınır [Taniguchi et al., 2002; Emmerlich et al., 2003; Scheibe, 2004]. Bundan əlavə, malat (1) nitratın reduksiyasının NADH ilə təmin edilməsi, (2) yağ turşularının biosintezinin karbon skeletləri və NADH ilə təmin edilməsi, (3) fototənəffüsə yardım, (4) osmotik təzyiğin tənzimlənməsi vasitəsilə ağızciqların hərəkəti, (5) hüceyrə pH-na nəzarət, (6) redoks hemostaz və (7) hüceyrə kompartmentləri arasında reduksiya olunmuş ekvivalentlərin nəqli və mübadiləsinə həyata keçirən fizioloji prosesləri həyata keçirir [Lance, Rustin, 1984].

Malatın utilizasiyasında iştirak edən fermentlərin çoxluğu, ona stres şəraitində hüceyrənin daxili fizioloji vəziyyətinin saxlanmasında mühüm rol oynamaq xassəsi verir [Пине́йру, 1991]. MDH və ME-lərin köməyi ilə malatın utilizasiyasının ikili yolu, orqanizmin enerjinin yaranması və karbon skeletinin sintezi zamanı qlikolizdən asılılığını azaldır, eyni zamanda xarici şəraitin modifikasiyası zamanı üzvi turşuların ehtiyat fondunun sintezi və sürətlə mobilizasiyası üçün zəmin yaradır [Пине́йру, 1991]. Bitkilərdə MDH sistemi özlərini ətraf mühitin dəyişməsinə, orqanizmin tələbatına və fizioloji vəziyyətinə dəqiq reaksiya vermək imkanları olan zülalların dinamik tarazlığı kimi göstərilir. MDH sistemi fermentlərinin iştirakı ilə metabolizmdə yaranan malat müxtəlif proseslərə qoşulmaqla bitkilərdə həyati əhəmiyyət kəsb edən adaptiv reaksiyaların yaranmasında iştirak edir [Пине́йру и др., 1991].

C₃-bitkilərin yarpaqlarında malatın miqdarı sutkanın işıq dövründə FEPK və MDH-nin katalizatorluğu şəraitində artaraq günün sonunda maksimuma çatır və gecə saatlarında getdikcə azalır [Aldous et al., 2014].

FEPK qlükoza-6-fosfatla aktivləşən, zülalın N-sonluğunda yerləşən Ser qalığının əks fosforlaşması və malatla inhibirlənən allosterik fermentdir [Nimmo, 2003; Fukuyama et al., 2006]. Fermentin fosforlaşması malata görə həssaslığı azaldır, Gly-6-F-a görə isə artırır. Müəyyən olunmuşdur ki, FEPK-nın fosforlaşması yaşıl orqanlarda CO₂-nin fiksasiyasında və bərabər paylanmasında mühüm rol oynayır. Işıq dövründə sitozolda sintez olunan malat vakuola daşınaraq orada toplanır [Gout et al., 1993]. Müəyyən olunmuşdur ki, qaranlıqda FEPK-nın aktivləşməsi zəifləyir və malatın vakuollara doğru axını dayanır. Bu zaman vakuollarda toplanan malat ayrı-ayrı piruvata kimi dekarboksilləşir. Dekarboksilləşmənin məhsullarından biri olan piruvat limon turşusu dövründə enerji məqsədi ilə istifadə edilir [Martinoia, Rentsch, 1994].

Malat, həmçinin canlı orqanizmlərdə elektronların əsas ötürücülərindən biri olan piridin nukleotidlərinin oksidləşmə-reduksiya reaksiyalarında mühüm

rol oynayır [Lehninger et al., 2008]. O MDH fermentinin aktivliyini inhibirləşdirməklə tənzimləyici xassə göstərir [Lüttge, 2000].

Lance və Rustin göstərir ki, malat Krebs və qliksilat dövranlarının aralıq məhsulu olmaqla, C₄- və CAM bitkilərdə CO₂ mənbəyi, reduksiyaedici ekvivalentlər üçün ehtiyat maddə rolunu oynayır və bitki metabolizmində mühüm əhəmiyyətə malikdir [Lance, Rustin, 1984]. Belə fikir var ki, malatın bir hissəsi xloroplastlarda piruvata çevrildikdən sonra yağ turşularının sintezində istifadə olunur [Krömer, Scheibe, 1996].

Vakuollarda ehtiyat halında toplanan malat osmotik təzyiği dəyişməklə ağızçıqların tənzimlənməsində, CO₂ və reduksiyaedici ekvivalentlərin daşıyıcısı və anabolik metabolizmdə karbon skeleti rolunu oynamaqla, hüceyrədə turşu-qələvi tarazlığının saxlanmasında iştirak edir. Bitki hüceyrələrinin turşulaşması malatın miqdarının sürətlə artması nəticəsində baş verir və güman olunur ki, malatın dekarboksilləşməsi zamanı protonların istifadə olunması turşuluğu azaldır [Sakano, 1998]. Belə hesab edilir ki, malatın sintezinə FEPK, dekarboksilləşməsinə isə NADF-ME cavabdehdir [Davies, 1986].

NAD-MALATDEHİDROGENAZA

CO₂-nin ikiəsaslı üzvi turşu olan malat (alma turşusu) formasında toplanması və onun dekarboksilləşməsi MDH fermentlərinin müxtəlif izoformaları tərəfindən həyata keçirilir. MDH sistemi fermentlərinə arxebakteriyalardan tutmuş, məməlilərə qədər bütün canlı orqanizmlərin toxumalarında və onların subhüceyrə fraksiyalarında (mitoxondrilərdə, qliksisomlarda, peroksisomlarda, xloroplastlarda) rast gəlmək olar [Goward, Nicholls, 1994; Yennaco et al., 2007; Selinski et al., 2014].

MDH sisteminə daxil olan fermentlərdən ən geniş öyrəniləni NAD⁺-asılı MDH-dır. NAD-MDH KA və katalaza kimi, təbiətdə çox geniş yayılmış fermentlərdən olub, yüksək katalitik aktivliyə malikdir. Malat-oksalsetat şatlının açar fermenti olan NAD-MDH-Krebs dövranında NAD/NADH koenzim sistemi ilə OA-nın malata çevrilməsinin dönər reaksiyasını kataliz etməklə yanaşı, malatın və OA-nın sintezini də həyata keçirir və reaksiyanın tarazlığı malatın əmələ gəlməsi tərəfə yönəlmişdir [Selinski et al., 2014; Minarik et al., 2002; Goward, Nicholls, 1994; Beeler et al., 2014; Zhijian Chen, 2015; Иванищев, 1991; Иванищев, Курганов, 1992]. Kofaktor kimi NAD-dan istifadə edən MDH-lər mitoxondrilərdə, sitozolda, peroksisom və qliksisomlarda lokalizə olunmuşdur. Müəyyən edilmişdir ki, NAD-MDH mitoxondrilərdə Krebs dövranında, sitozol və peroksisomlarda malat-aspartat məkik mexanizmində, qliksisomlarda isə yağ turşularının β-oksidləşməsində iştirak edir [Miller et al., 1998].

NAD-MDH eubakteriyalardan, arxebakteriyalardan, göbələklərdən, bitkilərin və məməli heyvanların subhüceyrə fraksiyalarından ayrılmış və

xassələri öyrənilmişdir [Goward, Nicholls, 1994; Eprintsev et al., 2003a; Eprintsev et al., 2005].

Bütün MDH-lər katalitik cəhətdən ekvivalent olan iki və ya dörd identik subvahidlərdən ibarət multimer fermentlərdir [Goward, Nicholls, 1994; Musrati et al., 1998; Minarik et al., 2002; Yashvant Patel et al., 2013]. Bu subvahidlərin biokimyəvi xarakteristikası MDH-nin yalnız tənəffüs ilə deyil [Nunes-Nesi et al., 2005; Tomaz et al. 2010], fototənəffüs, yağ turşularının β -oksidləşməsi [Miller et al., 1998], toxumun cücərməsi və stresə davamlılıq kimi proseslərlə də əlaqəli olduğu göstərilmişdir [Pracharoenwattana et al., 2007; Cousins et al., 2007; Wang et al., 2014]. Bundan başqa MDH müxtəlif zülallar və fermentlərlə kompleks əmələ gətirməklə orqanizmin fizioloji vəziyyətinə və təlabatına cavab verirlər [Minarik et al., 2002].

NAD-MDH-nin subhüceyrə lokalizasiyasına və kofaktor spesifikliyinə (NAD, NADP) görə fərqlənən çoxsaylı izoformaları bir-birindən nukleotid ardıcılığında bir ədəd aminturşu qalığı ilə fərqlənilirlər [Musrati et al., 1998]. NAD-MDH-nin müxtəlif izoformalarının genləri nüvədə kodlaşdırılır, zülalların sintezini sitoplazma ribosomlarında həyata keçirir və tranzit peptidlərinin köməyi ilə digər orqanoidlərə daşınır [Musrati et al., 1998].

NAD-MDH fototənəffüs prosesində də mühüm rol oynayır. Bu prosesdə çox zaman həm mMDH, həm də plMDH-yə malik olan malat/OA şatlıının cavabdeh olduğu qeyd olunur [Cousins et al., 2008].

Bitki orqanizmlərində, digər canlılarda olduğu kimi MDH aktivliyinə malik 2 fraksiya müəyyən edilmişdir: mitoxondri (mNAD-MDH) və sitozol (sNAD-MDH). mNAD-MDH-nin bitkilərdə ən azı üç istiqamətdə fəaliyyət göstərdiyi güman edilir. Birincisi, klassik Krebs dövrünün sonuncu reaksiyası olan malatın OA-ya oksidləşməsi reaksiyasını kataliz edir [Nunes-Nesi et al., 2007]. Bu izoforma yalnız Krebs dövrünü daxilində NADH-nin oksidləşməsi üçün vacib deyil, həmçinin müxtəlif hüceyrə kompartmentlərindəki metabolik yollar arasında reduksiyaedici ekvivalentlərin mübadiləsi üçün də cavabdehdir [Scheibe, 2004; Scheibe et al., 2005; Nunes-Nesi et al., 2007; Pracharoenwattana et al., 2007; Tomaz et al., 2010].

Bitkilərdə uzun müddət mMDH izoformalarının miqdarının dəyişməsinin müşahidə edilməsi göstərir ki, mMDH həmişə eyni səviyyədə ekspresiya olunmur və bitkilərdə tənəffüs sürətinin mühüm tənzimləyicisi kimi istifadə edilə bilər [Bardel et al., 2002; Lee et al., 2008].

NADF- və NAD-MDH-lərin aminturşu ardıcılığı müqayisə edildikdə NADF-MDH-nin daha uzun polipeptid zəncirə malik olduğu və onun N-sonluğunda 43, C-sonluğunda isə 13 aminturşu qalığından ibarət əlavə peptid ardıcılığının olduğu aşkar olunmuşdur [Cretin et al., 1990; Goward, Nicholls, 1994; Beeler et al., 2014]. Alınan nəticələr NADF-MDH-nin molekulyar çəkisinin NAD-MDH-nin molekulyar çəkisindən 7 kDa çox olduğunu təsdiq edir. Aminturşu ardı-

cılığına görə NAD-dan asılı formalar arasında oxşarlıq yalnız bir neçə qalıq saxlanmaqla 20%-dən (*E. coli*) [McAlister Henn, 1987] 50%-ə qədər (*Thermus flavus*) [Nishiyama et al., 1986] təşkil edir. NADF-dan asılı formalar arasında oxşarlıq daha yüksəkdir və metabolik tiptən (C_4 -qarğıdalı), sorqo [Cretin et al., 1990]; *Flaveria* [Mc Gonigle, Nelson, 1995], C_3 -noxud [Reng et al., 1993] və ispanaqdan (EMBL/Gen Bank/DDBC) asılı olmayaraq 80%-dən 94%-ə çatır.

Sheibe və b. [Selinski et al., 2014] hesab edirlər ki, plastid NAD-MDH (pNAD-MDH) qaranlıqda və heterotrof toxumalarda plastidal redoks tarazlığa əsaslı yardım göstərir. Bu yaxınlarda nəşr edilmiş işdə pNAD-MDH-nin plastidal enerjinin tarazlaşdırılmasında əsas rol oynadığı göstərilmişdir.

Bundan başqa, qaranlıq tənəffüsünün metabolik nəzarət əmsalları göstərir ki, yarpağın tənəffüsünə nəzarət MDH, fumaraza və oksoglutaratdehidrogenaza arasında bölüşdürülür [Araújo et al., 2012]. Beləliklə, bu fermentin mühüm və mürəkkəb rola malik olması, onun ali bitkilərdə karbonun və enerjinin paylanmasında vacibliyini göstərir. Bu da, öz növbəsində, bitkilərdə tənəffüs, fotosintez və fototənəffüsü əlaqələndirən molekulyar mexanizmlər haqqında yeni ideyalar ortaya qoyur [Cousins et al., 2007; Tomaz et al., 2010].

Sonralar alternativ metabolik yolların tədqiqi zamanı bitkilərdə MDH-nin digər izoformaları da aşkar olunmuşdur. Plastidlərdə lokalizə olunan MDH ilk dəfə ispanaq bitkisinin hüceyrələrində müşahidə olunmuşdur [Rocha et al., 1968].

Alınan nəticələr göstərir ki, pNAD-MDH başqa zülallarla aktiv kompleks birləşmələr əmələ gətirir. Bu hipotezin yoxlanılması və qarşılıqlı təsir üçün potensial zülalları identifikasiya etmək pNAD-MDH-nin funksiyasını aydınlaşdırmaq üçün maraqlı perspektivlər açır [Selinski et al., 2014]. Əvvəllər xloroplast MDH (xMDH) üçün həm dimer, həm də tetramer struktur təklif edilmişdir. Yüksək effektiv maye xromatografiya və ya analitik sentrifüqəlaşma üsullarından istifadə etməklə bir sıra laboratoriyalarda alınmış son nəticələr xNDH-nin dimer struktura malik olduğunu təsdiq etmişdir [Agostino et al., 1992; Ocheretina et al., 1993].

sMDH multimer quruluşa malik olub, monomerlərinin molekül çəkisi 30 və 35 kDa olan dimer, yaxud tetramerdən ibarətdir [Sundaram et al., 1980]. Hər bir monomer müstəqil katalitik aktivliyə malikdir və saytlar arasında hec bir kooperativ əlaqə aşkar olunmur [McEvily et al., 1985].

mMDH və sMDH-lər homodimer quruluşa olub, hər bir subvahidinin molekül çəkisi 35 kDa-a bərabərdir. Bu izoformaların hər ikisi 332 aminturşusu qalığından ibarət olub, sitoplazmada sintez olunurlar. Aralarındakı əsas fərq, onların ümumi polyarlığıdır. Sitozol və mMDH-lər arasında oxşarlıq çox az olub, cəmi 20-25% təşkil edir. sNAD-MDH mNAD-MDH-ya nisbətən NADH-nin yüksək qatılığına daha çox davamlılığa malikdir [Birktoft et al., 1989 a, b].

Qlioksisomal MDH (qMDH) yaşıl bitkilərin peroksisomlarında lokalizə olunaraq fototənəffüs və qlikolat dövrəndə iştirak edirlər [Reumann, Weber, 2006].

MDH izoformaları üçün olan metabolik sxemlər həqiqətə uyğun və geniş qəbul edilmiş olmaqla, digər biokimyəvi işlərin nəticələrinə də uyğun gəlməsinə baxmayaraq, bitkilərdə spesifik MDH izoformalarının tükənməsi, kənar edilməsi və ifrat ekspressiyası MDH-nin *in vivo* rolunun hələ tam aydın olmadığını göstərir. Məsələn, indiyə kimi hesab edilirdi ki, pMDH hidrokspiruvatın reduksiyası üçün lazım olan NADH-nin sintezində, fototənəffüs dövrəndə və yağ turşularının β -oksidləşməsi zamanı əmələ gələn NADH-nin oksidləşməsində iştirak edir. Lakin qlioksilat dövrəndə malatın oksidləşməsində onun potensial rolu hələ də aydınlaşmamışdır. *Arabidopsis thaliana* bitkisi ilə aparılan tədqiqatlar göstərmişdir ki, MDH β -oksidləşmə üçün zəruri olsa da, onun kənar edilməsi qlioksilat dövrəninin aktivliyinə elə də kəskin təsir etmir [Pracharoenwattana et al., 2007] və hidrokspiruvatın reduksiyasına yalnız cüzi təsir göstərir [Cousins et al., 2007].

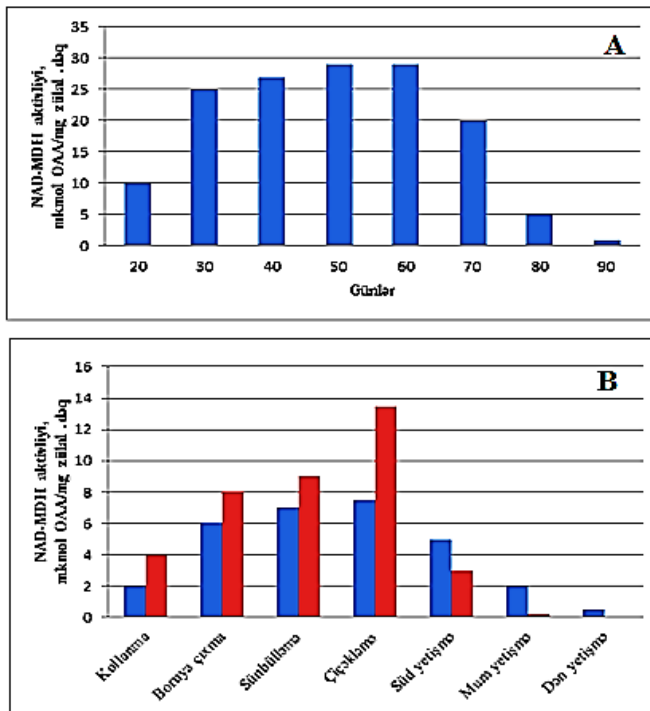
Müəyyən olunmuşdur ki, Krebs dövrəninin təkamülü bir genlə, yəni mitoxondrilərin əcdadı olan və sərbəst yaşayan orqanizmlərdən başlamışdır. Paraloji genlər, adətən eyni növə aid olduğundan təkamüldə, ya mövcud genin yeni funksiyası yaranır, ya da genin dublikasiyası baş verdikdə, analoji funksiya saxlanılır [Dani et al., 2014]. Genlərin paraloji ardıcılığı genom ardıcılığının təkamül yolunu aydınlaşdırmağa kömək edə bilər. Məsələn, peroksisomal MDH (pMDH) toxumun yetişməsi və yağ turşularının β -oksidləşmə üçün əhəmiyyətli olub [Pracharoenwattana et al., 2005], yalnız fototənəffüsə zəif təsir göstərdiyi halda [Cousins et al., 2008], mMDH həm bitki tənəffüsü, həm də *Arabidopsis* bitkisinin inkişafını tənzimləyən fototənəffüs prosesi üçün vacibdir [Tomaz et al., 2010]. sMDH-nin alfalfa bitkisi (*Medicago sativa*) ifrat ekspresiyası və torpaqda metalla kompleks əmələ gətirmək yolu ilə alüminiuma qarşı davamlılığı artırır [Tsfaye et al., 2001].

Ədəbiyyat məlumatlarına əsasən, demək olar ki, fermentin müxtəlif hüceyrə orqanoidlərində lokalizasiya olunan izoformaları arasında ixtisaslaşma, hər hansı bir izoformanın miqdarının dəyişməsi bitkinin böyüməsi və inkişafına güclü təsir göstərə bilər. Alınan nəticələrə əsasən, güman etmək olar ki, Krebs dövrəni mitoxondrilərin əcdadı olan və sərbəst yaşayan orqanizmlərdə ayrı-ayrı mərhələlərdə baş vermişdir [Schnarrenberger, Martin, 2002].

AMARANT VƏ BUĞDA YARPAQLARINDA NAD-MDH FERMENTİNİN TƏDQIQI

NAD-MDH aktivliyi 10 mM MgCl₂, 0,15 mM NAD·H tərkibli 100 mM Tris-HCl, pH-8,0, buferində spektrofotometrik üsulla tədqiq olunmuşdur (Scheibe, Stitt, 1988). Müəyyən edilmişdir ki, amarant yarpaqlarında NAD-

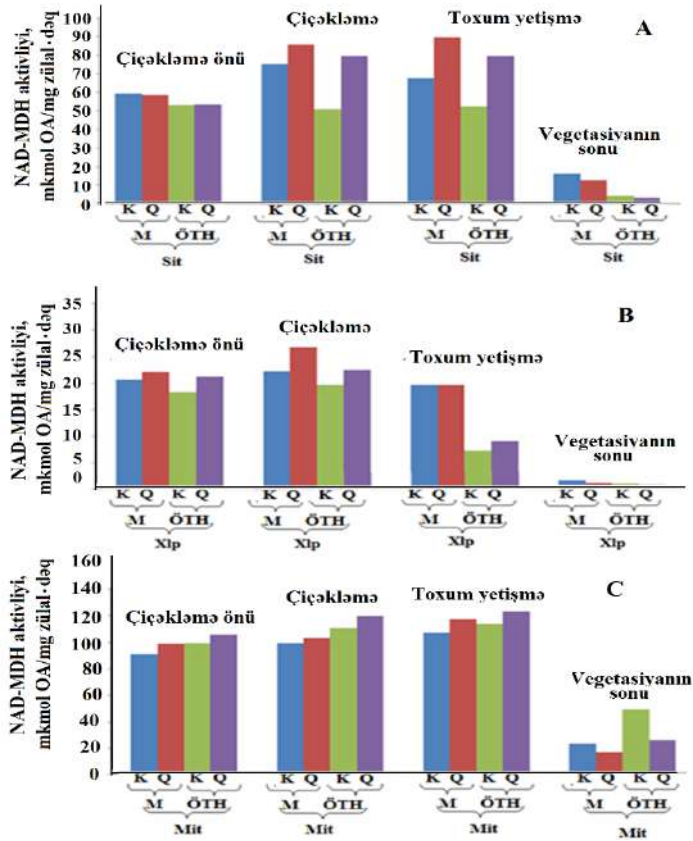
MDH bitkinin inkişafının sünbülləməönü mərhələsində ən yüksək aktivliyə malik olur və toxumlama mərhələsinədək olan dövrdə aktivliyi dəyişməz olaraq yüksək səviyyədə qalır. Toxumlamanın sonundan başlayaraq fermentin aktivliyi vegetasiyanın sonuna doğru getdikcə tədricən ən aşağı qiymət alanadək azalır (şəkil 3.8 A). Buğda genotiplərində amaranta oxşar nəticələrin alınmasına baxmayaraq, genotiplər arasında nəzərəcarpacaq fərqlər əmələ gəlir (şəkil 3.8 B). Belə ki, Bərəkətli-95 genotipindən fərqli olaraq Qaraqılçiq-2 genotipinin flaq yarpaqlarında NAD-MDH aktivliyi bitkinin inkişafının mummyetşmə mərhələsində minimuma enmiş, dənyetşmə mərhələsində isə tamamilə yox olmuşdur.



Şəkil 3.8. Amarant (A) və buğda (B) yarpaqlarında NAD-MDH aktivliyinin bitkinin inkişaf mərhələlərindən asılı olaraq dəyişmə dinamikası. ■-Bərəkətli-95 (B), ■-Qaraqılçiq-2 (B)

Alınan nəticələrə əsasən, demək olar ki, Qaraqılçiq-2 genotipi öz inkişafını Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə tez başa çatdırır. Belə ki, bu genotipin inkişafı bitki dändolma mərhələsində olarkən, Bərəkətli-95 inkişafın hələ mummyetşmə mərhələsində olur. Nəticədə Qaraqılçiq-2 genotipi Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə öz inkişafını 10-15 gün tez başa vurur (şəkil 3.8 B).

QURAQLIĞIN AMARANT VƏ BUĞDA YARPAQLARINDA NAD-MDH FERMENTİNİN AKTİVLİYİNƏ, İZOFERMENT TƏRKİBİ ÖYRƏNİLMİŞDİR. DIFFERENSIAL SENTRİFUQALAŞDIRMA VƏ 7,5 %-Lİ PAA GEL-ELEKTROFOREZ [Davis, 1964] ÜSULLARININ TƏBİQİNDƏN SONRA ALINAN NƏTİCƏLƏR 3.9 VƏ 3.10-CU ŞƏKİLLƏRDƏ VƏ 3.8-Cİ CƏDVƏLDƏ ÖZ ƏKSİNİ TAPMIŞDIR [Babayev, 2007; 2015; 2018]. ELEKTROFRETİK GELLƏRDƏ MDH İZOENZİMLƏRİNİN HISTOKİMYƏVİ ÜSULLA AŞKARLANMASI SPESİFİK MÜHİTDƏ NİTRO-TETRAZOL GÖYÜ İLƏ APARILMIŞDIR [Fildes, 1992].



Şəkil 3.9. Quraqlığın amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH aktivliyinin dəyişmə dinamikasına təsiri. A-sitozol, B-xloroplast, C-mitoxondri; MH-mezofil hüceyrələri, ÖTH-örtük topa hüceyrələri, K-kontrol, Q-quraqlıq

Müəyyən olunmuşdur ki, amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləməni mərhələsində yarpaqların MH və ÖTH-nin sitozol fraksiyalarında kontrol və quraqlıq nümunələrində NAD-MDH aktivliyinin quraqlığın başlanğıcında bir-birinə yaxın olmasına baxmayaraq, çiçəkləmə və toxumyetişmə mərhələlərində torpaq quraqlığının təsirindən artır. Vegetasiyanın sonunda fermentin aktivliyi hər iki variantda, çiçəkləmə və toxumyetişmə mərhələlərinə nisbətən ciddi şəkildə azalır. Şəkil və cədvəldən görüldüyü kimi, inkişafın çiçəkləməni mərhələsində mNAD-MDH-nin toxumalar və variantlar üzrə xüsusi aktivliyi sNAD-MDH və xNAD-MDH-nin xüsusi aktivliyindən, uyğun olaraq, ~2,5 və 8 dəfə, çiçəkləmə mərhələsində qeyd olunan bu göstərici sNAD-MDH aktivliyindən ~2 dəfə, xNAD-MDH aktivliyindən isə ~8, bəzən də 10 dəfəyədək yüksək olmuşdur. Vegetasiyanın sonuna yaxınlaşdıqca bu fərq daha da artmışdır (şəkil 3.9, cədvəl 3.8).

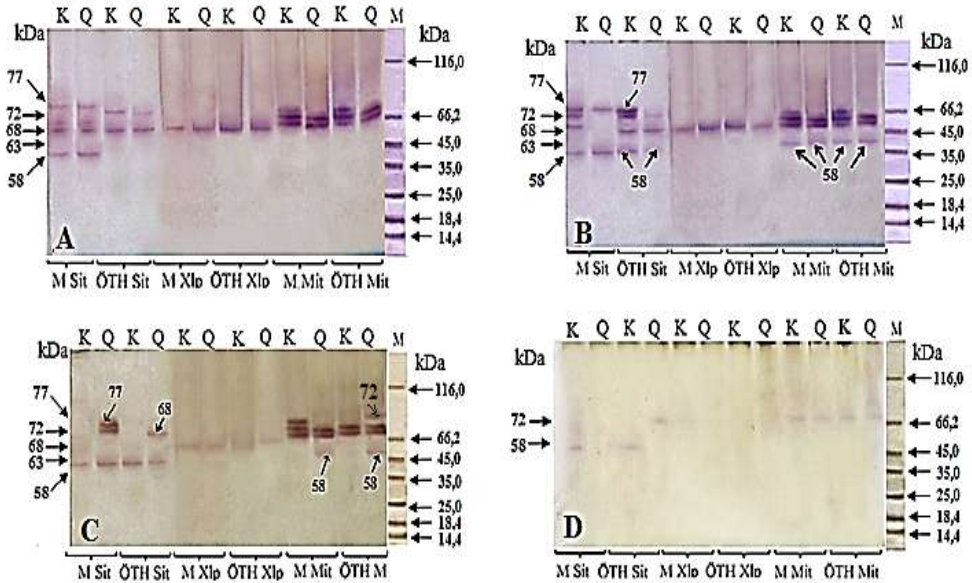
Quraqlığın biokimyəvi proseslərə təsirinin aradan qaldırılması üçün bitki orqanizmi spesifik katalitik xassə göstərən izoferment sintez etmək imkanlarına malikdir [Mladenova, 1990]. Bu baxımdan gel-elektroforez üsulu ilə NAD-MDH-nin izoferment tərkibi tədqiq olunmuşdur. Müəyyən edilmişdir ki, amarant yarpaqlarında NAD-MDH fermenti geniş izoferment spektrinə malikdir və quraqlığın təsirindən izoenzim spektrində əhəmiyyətli dəyişiklik baş verir (şəkil 3.10). Belə ki, amarantın inkişafının çiçəkləməni mərhələsində yarpağın MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında stresin ilkin vaxtlarında MDH-nin 58, 63, 68, 72 və 77 kDa molekul çəkisinə malik 5 izoformasını aşkar olunmuşdur (şəkil 3.10 A). Bunlardan 58, 63, 68 və 77 kDa molekul çəkili izoformalar MH-nin, 68 və 72 kDa molekul çəkili izoformalar ÖTH-nin sitozol, 63 kDa molekul çəkili izoforma MH və ÖTH-nin xloroplast, 63, 68 və 77 kDa molekul çəkili izoformalar isə MH və ÖTH-nin mitoxondri fraksiyalarında lokalizasiya olunmuşlar.

Şəkil 3.10-dan görüldüyü kimi, MH-nin sitozol fraksiyasında ontogenezin çiçəkləməni və çiçəkləmə mərhələlərində kontrol nümunələrdə ferment bütün izoformalara malik olsa da, yalnız 58 kDa-ç-li izoforma vegetasiyanın fəaliyyətini davam etdirmişdir. Çiçəkləmə mərhələsində quraqlığın təsirindən sNAD-MDH-nin 63 və 68 kDa molekul çəkili izoformaları yox olmuş, toxumyetişmə mərhələsində isə 72 kDa molekul çəkili induktiv izoforma əmələ gəlmişdir.

MH-dən fərqli olaraq ÖTH-nin sitozol fraksiyasında çiçəkləməni mərhələsində kontrol da 68 və 72 kDa molekul çəkili iki ədəd konstitutiv izoforma aşkar olunmuşdur. Çiçəkləmə mərhələsində fermentin izoferment spektrində dəyişilmə baş vermiş, kontrol da 58 və 77, quraqlıq da isə 58 kDa molekul çəkili induktiv izoformalar əmələ gəlmişdir. Toxumyetişmə mərhələsində isə kontrol da yalnız 58, quraqlıq da isə 58 kDa molekul çəkili izoforma ilə yanaşı, 68 kDa molekul çəkili induktiv izoforma aşkarlanmışdır.

Ontogenezin başa çatmasına yaxın bu izoformaların intensivliyi zəifləmişdir (şəkil 3.10). Şəkildən görüldüyü kimi, ÖTH xNAD-MDH-nin 63 kDa molekül çəkili bir forması vardır və toxumyetišmə mərhələsinin sonunda bu formanın aktivliyi minimum həddə qədər azalmışdır.

Ontogenezin çiçəkləməönü və çiçəkləmə mərhələlərində kontrol nümunələrinin MH və ÖTH-nin mNAD-MDH-nin 63, 68 və 77 kDa molekül çəkisinə malik olan 3 izoformasından torpaq quraqlığı üzündən 77 kDa molekül çəkili izoforma yox olmuş, çiçəkləmə mərhələsində isə hər iki toxumada, hər iki variantda 58 kDa molekül çəkili bir ədəd induktiv izoforma əmələ gəlmişdir (şəkil 3.10 A,B,C). Bunlardan fərqli olaraq ontogenezin toxumyetišmə mərhələsində bu toxumaların mitoxondrilərində fermentin kontrolunda 58 kDa molekül çəkili induktiv izoformasını itmiş və torpaq quraqlığında isə ÖTH-nin mitoxondrilərində 72 kDa molekül çəkili izoforma yenidən yaranmışdır [Babayev, 2015].



Şəkil 3.10. Quraqlıq şəraitində amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin izoformalarının nativ gel-elektroforez üsulu ilə təyini. A-çiçəkləməönü, B-çiçəkləmə, C-toxumyetišmə və D-vegetasiyanın sonu. Sit-sitioplazma, Xlp-xloroplast, Mit-mitoxondri, K-kontrol, Q-quraqlıq, M-marker zülalları- β -qalaktozidaza (116 kDa), öküzün zərdab albumini (BSA) (66,2 kDa), yumurta albumini (45 kDa), laktatdehidrogenaza (35 kDa), restriktion endonukleaza BSP981, (25 kDa), α -lactoqlöbulin (18,4 kDa) və lizosim (14,4 kDa). NAD-MDH üçün inkubasiya məhlulunun tərkibi: 100 mM Tris-HCl bufer; pH-8,5 - 90 ml; 0,05 M L-malat-Na-220 mq; pH 7,0 - 10 ml; 0,02 M NAD-20 mq; 0,01 M NTG-20 mq; 0,01 M FMS-10 mq.

Bitki vegetasiyasının sonunda təcrübə bitkilərinin MH və ÖTH-də mNAD-MDH-nin 68 kDa molekul çəkili izoformasının zülalının miqdarı azalaraq, cüzi qalmışdır.

Torpaq quraqlığının təsirindən və bitkinin inkişaf mərhələlərindən asılı olaraq MDH-nin yeni molekulyar formalarının əmələ gəlməsi malatın oksidləşməsinin, yaxud OA-nın reduksiyasının yekun sürətinin dəyişməsinə gətirib çıxarmışdır. Bu isə bitkinin “energetik sisteminin” mühitin dəyişən şəraitinə maksimum uyğunlaşmasına zəmin yaradır və yeni stasionar davamlı səviyyəyə keçməsinə imkanlar açır.

Amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin izoferment spektrində yaranan müxtəliflik torpaq quraqlığının təsirindən ağızcıqların bağlanması ilə əlaqədar yaranan CO₂ qıtlığının qarşısını almaq üçün MDH-lər hesabına C₄-turşuların sintezini artırmaqla bitkilərin istifadə etdiyi alternativ yollardan biridir. Bu zaman quraqlıqda ağızcıqların bağlandığı və qaz mübadiləsinin zəiflədiyi şəraitdə KQM-in fəallaşması nəticəsində Calvin-Benson dövrünü CO₂ ilə təmin edilmiş olur [Amthor, 2010; Wang et al., 2014].

Təkamül prosesində C₄-bitkilərin yarpaqlarının anatomik quruluşunda yaranan mürəkkəbli və alınan nəticələr iki növ fotosintezedici toxumanın əmələ gəldiyini və streslə əlaqədar ferment sistemlərinin fəaliyyətində və izoferment tərkibində də mürəkkəbliyin yarandığını sübut edir.

Alınan nəticələr göstərir ki, amarant yarpaqlarının subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin izoformaları mütəhərrik vəziyyətə keçə bildiklərindən bir fraksiya üçün konstitutiv olan izoforma, stresin təsirindən digər fraksiya üçün induktiv ola bilər.

mNAD-MDH-yə bütün eukariot hüceyrələrdə təsadüf edilmiş və Krebs dövrəsində malatın oksalasetata çevrilməsi reaksiyasını kataliz etməklə, NAD-ME yarım tip bitkilərin ÖTH mitoxondrilərində KQM-in həyata keçirilməsində iştirak edir, aktivliyinin azalması CO₂ mənbəyi rolunu oynayan malatın miqdarının azalmasına səbəb olur [Tronconi et al., 2008].

NADF-MDH-dən fərqli olaraq, pNAD-MDH izole edilmiş xloroplastlarda həm işıqda, həm də qaranlıqda aktivlik göstərir. Işıqda hər iki fermentin aktivliyi bərabər səviyyədə olur [Backhausen et al., 1998; Berkemeyer et al., 1998]. Backhausen və b. [Backhausen et al., 1998] göstərmişlər ki, müxtəlif obyektlərdən alınan və qaranlıqda inkubasiya edilən xloroplastlarda və heterotrof xromoplastlarda dihidroksiasetonfosfat və oksalasetat əlavə edildikdə, eyni zamanda 3-FQT və malat əmələ gəlir. Qeyd olunur ki, 3-FQT-nin əmələ gəlməsi QAFDH-nin iştirakı ilə qlikolizdə baş verir və pNAD-MDH QAFDH üçün lazım olan NAD elektron akseptorunu OA-nın malata reduksiya etmək yolu ilə regenerasiya edir. Bunun hesabına “malat-oksalasetat” şatlı yaşıl olmayan toxumalarda və qaranlıqda həyata keçirilir [Scheibe, 2004; Taniguchi, Miyake, 2012].

Əvvəlki işlərdə *in vitro* pNAD-MDH-nin, əsasən, oksalasetatının malata reduksiya reaksiyasını kataliz etdiyi göstərilmişdir [Scheibe, 2004; Cvetic et al., 2008; Beeler et al., 2014]. Beləliklə, pNAD-MDH hesabına elektron akseptoru olan NAD-ın plastidlərin daxilində regenerasiyası baş verir. Bununla belə, reaksiyanın istiqaməti *in vivo* şəraitində metabolik axınlardan asılı olaraq dəyişə bilər. Güman olunur ki, yağ turşularının sintezində olduğu kimi hüceyrədə sərf olunan NADH-nin sintezi reaksiyası pNAD-MDH vasitəsilə katalizi olunur. Doğrudan da müəyyən olunmuşdur ki, reduksiyaedici ekvivalentlərin sitozoldan plastidlərə nəqli qeyri-fotosintetik toxumalarda yağ turşularının biosintezi üçün NADH-nin əlavə mənbəyi rolunu oynayır [Dörmann, 2006].

Beləliklə, yarpaqlarda Krebs dövrəsinə mMDH-nin köməyi ilə əmələ gələn malat, reduksiyaedici ekvivalentlərin dolayı yolla plastidlərə daşımında iştirak edir. Qeyd etmək lazımdır ki, *Arabidopsis*-də qaranlıqda mMDH-1-də malatın miqdarının artması onu göstərir ki, normal bitkidə gecə saatlarında malatın OA-ya oksidləşməsi reaksiyası pNAD-MDH ilə kataliz olunur və nəticədə NADH əmələ gəlir [Selinski et al., 2014; Beeler et al., 2014].

sNAD-MDH mNAD-MDH-yə nisbətən az öyrənilmişdir. Göstərilir ki, sNAD-MDH bəzi məkik mexanizmlərdə, substratların və reduksiyaedici ekvivalentlərin sitozolla digər hüceyrə kompartimentləri arasında mübadiləsinə iştirak edir [Yu, Ding, Qing-Hu, Ma, 2004].

Beləliklə, müəyyən olunmuşdur ki, quraqlığın təsirindən amarant yarpaqlarında bitkinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsindən NAD-MDH-nin izoenzim dəyişkənliyi başlayır və vegetasiyanın sonunadək davam edir [Babayev, 2015; 2018] və hər iki toxumada sNAD-MDH və mNAD-MDH-nin 58, 72 və 77 kDa molekulyar çəkili izoformaları induktiv zülal rolunu oynayırlar.

Elektroforetik analiz və fermentin aktivliyinin subhüceyrə lokalizasiyasının tədqiqi göstərir ki, MDH bitki toxumalarında özünü orqanizmin inkişaf şəraitindən və tələbatından asılı olan, müxtəlif molekulyar formaların dinamik tarazlığı kimi göstərməklə geniş zülal polimorfizminə malikdir və bitkilərdə metabolik proseslərin intensivliyi ilə MDH-nin izoenzim spektri arasında korrelyasiyanın olduğu aşkar olunmuşdur. MDH-nin ən çox molekulyar formaları, bitkinin ən çox intensiv metabolik proseslər gedən cavan yarpaqlarında qeydə alınmışdır [Babayev, 2018]. Alınan nəticələr ədəbiyyat məlumatlarında öz təsdiqini tapmışdır [Ma et al., 2006].

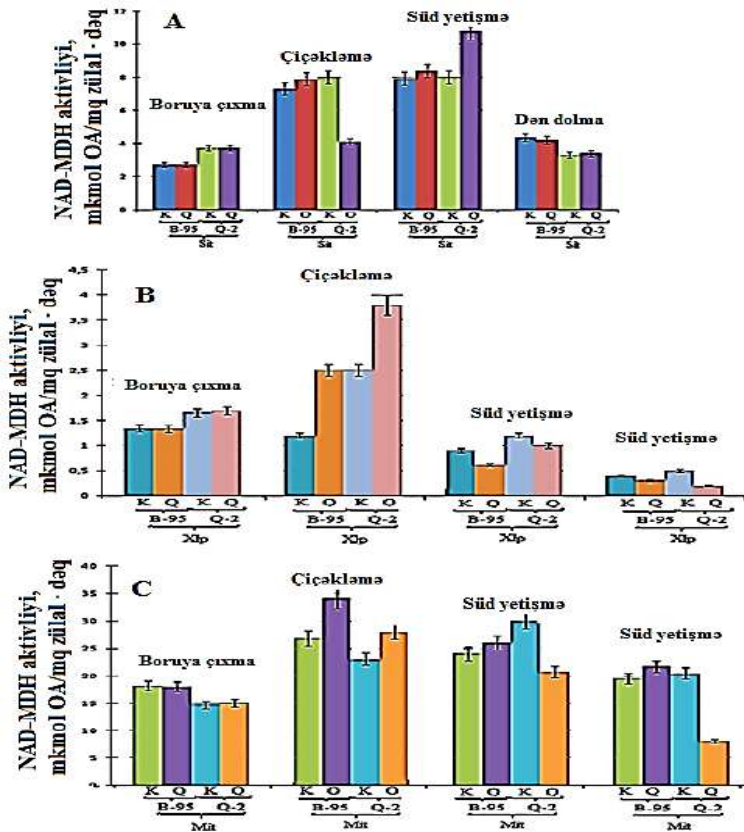
C₄-fotosintez mexanizminə malik olan amarant bitkisi ilə yanaşı, quraqlığadavamlılığına görə fərqlənən buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında da NAD-MDH fermentinin aktivliyi, subhüceyrə lokalizasiyası və izoferment spektri müqayisəli öyrənilmişdir (şəkil 3.11).

Alınan nəticələr göstərir ki, Bərəkətli-95 buğda genotipinin flaq yarpaqlarında sNAD-MDH aktivliyi Qaraqılçiq-2 genotipinə nisbətən aşağı olmuşdur. Qaraqılçiq-2 genotipində sMDH-nin ən yüksək aktivliyi bitkinin in-

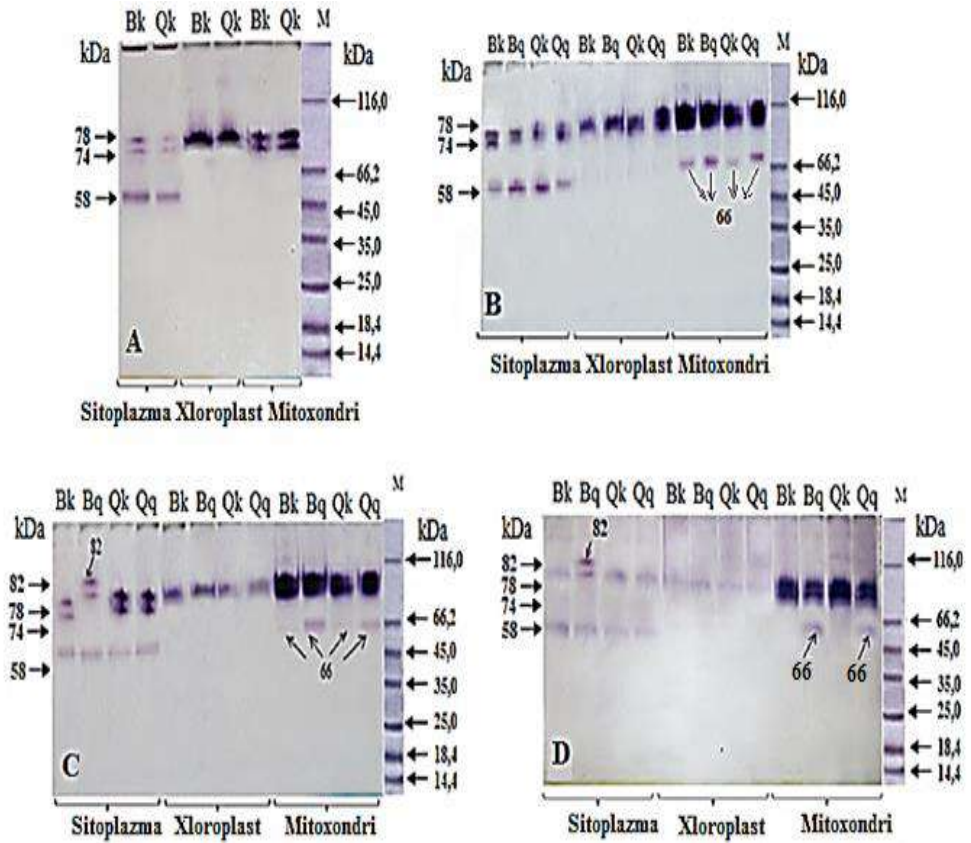
kişafının südyetişmə mərhələsində quraqlıq zamanı müşahidə olunsa da, dənyetişmə mərhələsində hər iki genotipdə fermentin aktivliyi azalaraq boruyaçıxma mərhələsindəki göstəriciyə uyğun olmuşdur. Bütün variantlarda SMDH-nin zülalə görə aktivliyi vegetasiyanın sonlarına doğru tədricən azalaraq dənyetişmə mərhələsində minimuma enmişdir.

Müəyyən edilmişdir ki, mNAD-MDH buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə və südyetişmə mərhələlərində yüksək olur. Növbəti mərhələlərdə ferment çiçəkləmə mərhələsi ilə müqayisədə aşağı aktivlik göstərmişdir (şəkil 3.11 C). Bitkinin inkişaf mərhələlərindən asılı olaraq xMDH-nin aktivliyi mMDH aktivliyindən 7-12 dəfə aşağı olmuşdur (şəkil 3.11 B).

Ümumiyyətlə, buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında MH-nin 58, 74, 78 kDa molekül çəkili izoformaları sitozolda, 78 kDa molekül çəkili izoforma xloroplastda, 74 və 78 kDa molekül çəkili izoformalar isə mitoxondrilərdə lokalizasiya olunmuşdur (cədvəl 3.6, 4.2, 4.3; şəkil 3.12).



Şəkil 3.11. Quraqlığın Bərəkətli-95 və Qaraqılçlıq-2 buğda genotiplərinin aktiv inkişaf mərhələlərində flaq yarpaqlarının MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH aktivliyinə təsirinə dəyişmə dinamikası. A-sitozol, B-xloroplast, C-mitoxondri



Şəkil 3.12. Quraqlıqda buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH izoformalarının gel-elektroforez üsulu ilə təyini. A-boruyaçıxmanın əvvəli (stres yoxdur), B-boruyaçıxmanın sonu, C-çiçəkləmə; D-dənyetişmə mərhələləri, Bk-Bərəkətli-95 kontrol, Bq-Bərəkətli-95 quraqlıq, Qk-Qaraqılçiq-2 kontrol, Qq-Qaraqılçiq-2 quraqlıq; M-marker zülallar- β -galaktozidaza (116 kDa), öküzün zərdab albumini (BSA) (66,2 kDa), yumurta albumini (45 kDa), laktatdehidrogenaza (35 kDa), restriktion endonukleaza BSP981 (25 kDa), α -lactoglobulin (18.4 kDa) və lizosim (14.4 kDa). Fermentin molekul çəkisi gel-elektroforez üsulu ilə təyin olunmuşdur [Laemmli, 1970].

Torpaq quraqlığı üzündən Bərəkətli-95 genotipinin sitozolunda NAD-MDH-nin molekul çəkisi 82 kDa olana yeni izoformasını aşkarlandığı halda, Qaraqılçiq-2 genotipinin sitozolunda bu izoforma müşahidə olunmamışdır (şəkil 3.12 C). Bununla yanaşı, hər iki genotipin mitoxondri fraksiyasında quraqlığın təsirindən NAD-MDH-nin 66 kDa molekullu induktiv izoformasını əmələ gəlmişdir.

Quraqlıq şəraitində amarant və buğda genotiplərinin yarpaqlarında NAD-MDH-nin aktivliyinin subhüceyrə lokalizasiyası (A-xüsusi aktivlik EU/mq zülal)

Genotip, Variant	NAD-MDH aktivliyi (A-xüsusi aktivlik EU/mq zülal)						
	Xloroplast		Sitozol		Mitoxondri		
	A	%	A	%	A	%	
Amarant-Çiçəkləmə mərhələsi							
MH	K	21,6±0,93	10,6	56,6±1,68	28,0	125,5±3,2	61,6
	Q	26,1±1,3	13,3	46,3±1,43	23,6	123,4±4,1	63,1
ÖTH	K	19,0±1,01	7,6	79,5±1,71	31,8	152,0±4,4	60,6
	Q	12,4±0,91	6,1	51,1±0,99	25,1	140,0±3,8	69,0
Buğda-Çiçəkləmə mərhələsi							
Bərəkətli-95	K	0,9±0,84	1,2	7,9±0,62	24,0	24,4±1,22	74,9
	Q	0,7±0,42	1,1	8,4±0,66	23,5	26,6±1,31	75,3
Qara-qılçiq-2	K	1,2±0,63	3,0	8,0±0,53	20,2	30,4±0,97	76,8
	Q	1,0±0,43	3,1	10,8±0,71	33,3	20,7±0,88	63,6

Beləliklə, alınan nəticələrə əsasən qeyd etmək olar ki, buğda bitkisinin aktiv inkişaf mərhələlərində NAD-MDH izoformalarının aktivliklərinin kontrol və təcrübə bitkilərində oxşar şəkildə dəyişməsi məhsuldarlıq, izoferment spektrində və labilliyində baş verən dəyişkənliklər isə davamlılıq əlaməti hesab oluna bilər.

NADF-MALATDEHİDROGENAZA VƏ MALAT KLAPANI

NADF-MDH sorqo və *Zea mays* kimi C₄- bitkilərdə fotosintezin əsas fermenti olub, MH-nin xloroplastlarında lokalizasiya olunmuşdur. MDH fermentlərinin NADF-dan asılı forması 1969-cu ildə Hatch və Shlack tərəfindən C₃- və C₄-bitkilərin xloroplastlarında identifikasiya edilmişdir [Hatch, Shlack, 1969]. NADF-ME tip C₄-bitkilərin MH-də sintez olunan malat ÖTH-yə daşınır və orada spesifik NADF-malik enzim vasitəsi ilə dekarboksilləşdirilir və ayrılan CO₂ reduksiyaedici pentozamonofosfat yolu ilə yenidən karbohidratların sintezinə yönəldilir. Beləliklə, NADF-MDH reaksiyasının substratı olan malat CO₂-nin nəqlini həyata keçirməklə, həm də CO₂-nin karbohidrata reduktiv assimilyasiyasında istifadə edilən reduksiyaedici ekvivalentlərin MH-dən ÖTH-nin xloroplastlarına daşınmasında iştirak edir [Hatch, 1977; Эдвардс, Уокер, 1986].

C₄-bitkilərdə yüksək aktivlik göstərən NADF-MDH fermenti C₃-bitkilərin yarpaqlarında da əhəmiyyətli aktivliyə malikdir. Onun C₃-bitkilərdə rolu tam aydın olmasa da, aparılan təcrübələrin nəticələri göstərir ki, C₃-bitkilərdə NADF-MDH-nin funksiyası CO₂-nin assimilyasiyası ilə bağlı deyil. Güman olunur ki, bu ferment yarpağın inkişafının ilkin mərhələlərində nitratin assi-

milyasiyası və digər proseslərə kömək etmək üçün reduksiyaedici ekvivalentlərin xloroplastlardan çıxarılmasında iştirak edir [Ferte et al., 1986].

Homogen təmizlənmiş NADF-MDH zülalı fermentativ aktivliyə malik olmur. Tam aktivlik almaq üçün ferment tioredoksin və DTT ilə əvvəlcədən aktivləşməlidir [Buchanan, Balmer, 2005]. Xloroplast fermentini əvvəlcədən aktivləşdirdikdə onun katalitik xassələrini müəyyənləşdirmək mümkün olur. Kiçik kənaraxımlar nəzərə alınmazsa, Laynuiver-Berk qrafikində K_m -in qiyməti OA üçün 20-40 mK, NADFH üçün 12-24 mM və NADF üçün NADFH-yə uyğun nəticələr alınmışdır [Edwards et al., 1985; Kaqawa, Bruno, 1988]. Sorqo bitkisinde NADF-MDH üçün OA-ın artıq miqdarı ilə inhibirləşmə 0,8 mM-dan yüksək qatılıqlarda müşahidə edilmişdir. Aktivliyi modulyasiya edən heç bir effektor identifikasiya edilməmişdir. Fermentin aktivliyi yalnız onun aktivləşmə səviyyəsi ilə tənzimlənir [Buchanan, Balmer, 2005].

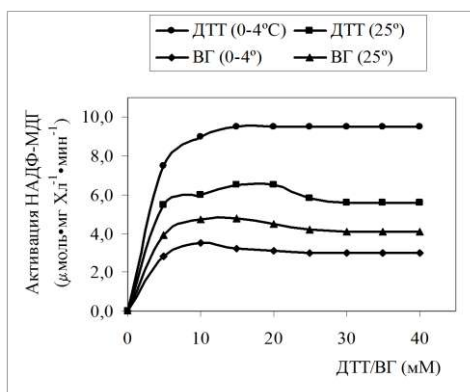
NADF-MDH aktivliyinin təyini fermentin aktivləşdirilməsi ilə başlayır. Aktivləşmə tərkibinə 10 mq/ml BSA və ferment preparatı daxil olan pH 8,0, 1 M Tris-HCl buferindən ibarət aktivləşdirici mühitdə 100 mM DTT-nin iştirakı ilə 15 dəq müddətində aparılmışdır. NADF-MDH aktivliyini 100 mM Tris-HCl buferində (pH-7,5), (2,5 mM NADF⁺, 8 mM MnCl₂) spektrofotometrik üsulla [Hatch et al., 1982] təyin edilmişdir. Bu üsulla aldığımız nəticələr göstərir ki, buğda və amarant yarpaqlarında yüksək temperaturda DTT fermentin qeyri-aktiv formasını reduksiya olunmuş qlütationa nisbətən daha çox aktivləşdirir ki, bu da NADF-MDH-nin sistein molekulları arasında yaranan disulfid körpüçükləri hesabına aktivləşdiyini göstərir. Bu proses, DTT molekullarında olan SH-qrupları ilə stimulyasiya olunur. Reduksiya olunmuş qlütationda tiol qrupları olmadığından ferment çox zəif sürətlə aktivləşir (şəkil 3.13) [Бабаев и др., 2006; Bayramov və b., 2013].

Noxud və qarğıdalının xloroplastlarından ayrılmış və təmizlənmiş NADF-MDH-nin molekul çəkisi 150 kDa-ya bərabər olub, ayrılıqda aktivlik göstərməyən 4 monomerdən ibarətdir. Yarpaq hüceyrələrində NADF-MDH OA, NADFH, NADF⁺-a qarşı yüksək, malata qarşı isə zəif həssaslığa malikdir [Диксон, 1982].

Metabolizmdə mühüm rola malik oksidləşmə-reduksiya reaksiyalarına hüceyrənin bütün kompartmentlərində rast gəlinir. Bitkilərdə reduksiyaedici qüvvənin mənbəyi xloroplastların tilakoid membran sistemləridir. Burada işığın təsiri ilə baş verən fotosintetik elektron nəqli ATF və reduksiyaedici ekvivalent olan NADFH-nin yaranmasına gətirib çıxarır [Dietz, Pfannschmidt, 2011]. Yüksək işıq intensivliyində baş verən ani dəyişikliklər və biosintetik proseslərdə ATF və NADFH-nin müxtəlif miqdarlarda istifadə olunması ATF/NADFH nisbətini dəyişir. Buna baxmayaraq, bu nisbətin müəyyən səviyyədə saxlanması bitki metabolizmi üçün çox vacibdir. Ona görə ki, bu şəraitdə elektronların artıq miqdarda akkumulyasiyasının və sitotoksik reaktiv oksigen radikallarının yaranmasının qarşısı alınır və ATF-in davamlı olaraq biosintezinə imkan yaranır

[Apel, Hirt, 2004; Logan et al., 2006; Scheibe, Dietz, 2012]. Bitkilər izafi elektronların paylanması, hüceyrə komponentlərinin zədələnməsinin qarşısının alınması və redoks homeostazın saxlanması üçün bir neçə mexanizmə malik olurlar. Qeyri-fotokimyəvi enerji sönməsi, xloroplast tənəffüsü, dövri elektron nəqli və Mehler reaksiyası bu mexanizmlərə aiddir [Scheibe et al., 2005].

Xüsusi elektron daşıyıcıları və ya reduksiya olunmuş kofaktorlar (ferredoksin, NADPH) formasında olan reduksiyaedici ekvivalentlər, adətən, membrandan birbaşa deyil, dolayı yolla, yəni malat şəklində oksalasetat ilə mübadilə olunmaqla daşınırlar. Bu redoks tarazlaşdırıcı mexanizm işıqlandırılmış plastidlərdə malat klapanı və yaxud daha ümumi şəkildə malat/oksalasetat şatlı kimi tanınır [Scheibe, 2004; Yamane et al., 2012].



Şəkil 3.13. Qaranlıqda amarant yarpaqlarından ekstraksiya olunmuş NADF-MDH-nin aktivləşməsi. Ferment ekstraktı 0-4°C və 25°C temperaturalarda inkubasiya olunmuşdur. Ekstraksiya mühiti: 0,1 M Tris HCl (pH-8,0), DTT-ditiotreytol, RQ-reduksiya olunmuş qlütation

NADF-MDH stabil CO₂ daşıyıcısı olan malatın CO₂-nin ilkin fiksasiya məhsulu olan OA-dan əmələ gəlməsi reaksiyasını kataliz etməklə C₄-bitkilərin çoxunda CO₂-nin fiksasiyasında birbaşa iştirak edir. Işıqda NADF-MDH tioredoksinlər vasitəsilə redoks oksidləşir, qaranlıqda isə demək olar ki, qeyri-aktiv olur [Scheibe, 2004; Buchanan, Balmer, 2005; Lepistö et al., [2009].

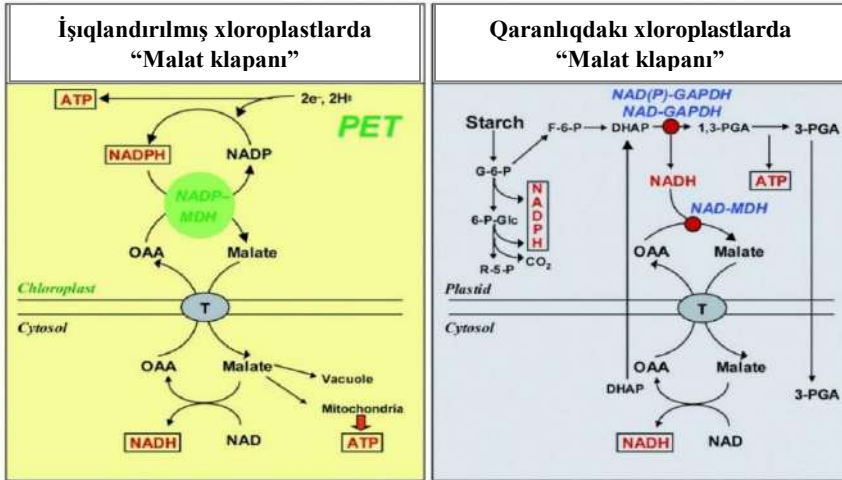
NADF-MDH aktivliyi işıqla modulyasiya olunur. Belə ki, izolə edilmiş xloroplastların, yaxud qaranlıqda saxlanmış yarpaqların ekstraktlarında NADF-MDH-nin aktivliyi azalır, işığa çıxarıldıqda isə yenidən bərpa olunur [Miginas, Maslov, 1997]. İzolə edilmiş xloroplastların və yaxud qaranlıqda saxlanmış yarpaqların ekstraktlarına disulfid qruplarını reduksiya edən DTT əlavə etməklə işıqdakı effekti əldə etmək olar [Anderson, Avron, 1976]. Bu cür aktivləşmə bir çox xloroplast fermentlərinə xasdır. Işığın təsiri altında olan xloroplastlarda malat/oksalasetat şatlı oksidləşmə-reduksiya hemostazında iştirak edən bir mexanizmdir. Fotosintetik elektron nəqlinin izafi elektron-

ları NADF-nin reduksiya olunmuş formasında NADF-dan asılı MDH vasitəsilə OA-nın malata reduksiyasında istifadə edilir və beləliklə, elektron akseptoru olan NADF regenerasiya olunur. NADF-MDH, şübhəsiz, redoks-tənzimlənən, işıqda aktivləşən və qaranlıqda qeyri-aktiv bir fermentdir [Jaquort et al., 1997]. DTT-nin təsirinin öyrənilməsi tiol qruplarının aktivləşmə mexanizminə daxil olduğunu söyləməyə imkan verir. DTT-nin tioredoksin adlanan zülalın iştirakı ilə daha effektiv olması bunu bir daha təsdiq edir [Kaqawa, Hatch, 1977]. NADF-MDH-nin DTT tioredoksin molekulasını reduksiya etməsi ilə aktivləşməsi hər bir subvahiddə iki tiol qrupunun əmələ gəlməsi ilə müşayiət olunur. Aktivləşmə yolunun elementləri “ferredoksin-tioredoksin sistemi”nin stromal zülallarından ibarətdir [Buchanan, Balmer, 2005]. Xloroplastlarda lokalizasiya olunan NADF-MDH sitozol və stroma arasında reduksiya olunmuş ekvivalentlərin tarazlığının saxlanılmasında mühüm rol oynayır [Buchanan, Balmer, 2005]. Nəhayət, aparılan çoxsaylı tədqiqatlar nəticəsində NADF-MDH-nin aktivləşməsinə gətirib çıxaran reaksiyalar ardıcılığı müəyyən edilmişdir. Fotokimyəvi yolla reduksiya olunmuş ferredoksin elektronlarını ferredoksin-tioredoksin-reduktazaya verməklə onun disulfid körpücüyünü reduksiya edir. Bu ferment də öz növbəsində tiol/disulfid qarşılıqlı təsiri vasitəsilə tioredoksini reduksiya edir. Bu tioredoksinlər bir sıra xloroplast fermentlərini aktivləşdirirlər [Droux et al., 1987; Jaquort et al., 1997].

NADF-MDH SH-qruplarının kəmiyyətə ilkin təyini zamanı aktivləşmiş nativ və denaturasiya olunmuş zülalların tiol tərkibi müqayisə edilərkən müəyyən olunmuşdur ki, NADF-MDH-nin fizioloji aktivləşməsindən sonra hər subvahiddə iki SH-qrupu əmələ gəlir. Bu zaman bir disulfid qrupu reduksiya olunur. Ədəbiyyatlarda NADF-MDH-nin hər subvahidinə düşən SH-qruplarının sayının dördədən [Decottignies et al., 1988] doqquza qədər [Kagawa, Bruno, 1988] olduğu haqqında məlumatlar vardır. Təbiətdə NADF-MDH miqdarının C₄-bitkilərdə C₃-bitkilərə nisbətən daha çox olması, onun bu bitkilərdə daha əhəmiyyətli rola malik olduğunu göstərir. Fermentin aktivlik səviyyəsi C₄-qarğıdalı bitkisininə C₃-ispanaq bitkisinə nisbətən 10 dəfə yuxarıdır [Ferte et al., 1986] və C₃-C₄ *Flaveria* bitkilərində mRNT-nin toplanması C₃-*Flaveria* bitkilərinə nisbətən aşağıdır [McGonigle, Nelson, 1995]. Usuda və əməkdaşları qarğıdalı bitkisininə NADF-MDH-nin aktivlik səviyyəsi ilə CO₂-nin fotosintetik assimilyasiyası arasında korrelyasiyanın olduğunu aşkar etmişlər [Usuda et al., 1984].

NADF-MDH fermentinin işıqla bağlı fizioloji funksiyasına əsaslanaraq müəyyən edilmişdir ki, sorqo yarpağındakı NADF-MDH-ni kodlaşdıran genin ekspressiyası işıqla tənzimlənir [Luchetta et al., 1990; 1991]. Fermentin aktivlik səviyyəsi bitkinin cavan yarpaqlarında daha yüksək olur və yarpaqlar qocaldıqca bu səviyyə aşağı düşür [Merlo et al., 1993]. Bu fakt NADF-MDH-nin fermentativ aktivliyinin aktiv metabolizm ilə assosiativ əlaqədə olduğunu göstərir.

C_4 -bitkilərdə MH və ÖTH arasında reduksiyaedici potensialın dövriyyə forması olan malatın iştirak etdiyi proseslərdə NADF-MDH-nin funksiyası çox əhəmiyyətlidir. Belə ki, C_4 -bitkilərin MH-si Kalvin-Benson dövrənindən və onun fermentlərindən məhrum olduğuna görə bu heceyrələrin xloroplastlarında NADF-MDH-nin reduksiyaedicilik xassəsinə qarşı rəqabətdə duran qüvvə yoxdur [Edwards et al., 1985]. Bu fermentin Kalvin-Benson dövrənində reduksiyaedici qüvvə üçün əsas akseptor olan C_3 -bitkilərin xloroplastlarında fizioloji rolu az öyrənilmişdir (şəkil 3.14).



Şəkil 3.14. İşıqlandırılmış (solda) və qaranlıqdakı (sağda) xloroplastlarda malat klapanı. PET-fotosintetik elektron transportu, T-dikarbon turşularının translokator zülalı, OAA-oksalasetat, Starch-niştasta, P-6-P-pentoza-6-fosfat, 6-P-Gliqlükoza-6-fosfat, ATP-adenozintrifosfat, NADH-nikotinamidadeninidinukleotidin reduksiya olunmuş forması, NAD-nikotinamidadeninidinukleotidin oksidləşmiş forması, NADPH-nikotinamidadeninidinukleotidfosfatın reduksiya olunmuş forması, NADP⁺-nikotinamidadeninidinukleotidfosfatın oksidləşmiş forması, R-5-P-ribulozo-6-fosfat, P-6-P-fruktozo-6-fosfat, DHAP-dihidroksiasetonfosfat, 1,3-PGA-1,3-difisfiqliserin turşusu, 3-PGA-3-fosfoqliserin turşusu

Fərz olunur ki, bitkilərdə NADF-MDH xloroplastlarda karbonun assimilyasiyası üçün lazım olan reduksiyaedici ekvivalentlərin ixracının qarşısını alır və müdafiə funksiyası daşıyır. Şaybə tərəfindən [Scheibe, 1990] C_3 -bitkilərin xloroplastlarında NADF-MDH-nin funksiyası üçün "malat klapanı" konsepsiyası təklif edilmişdir. Bu konsepsiyaya görə ferment xloroplastlarda yalnız əlavə reduksiyaedici qüvvə olarsa fəaliyyət göstərir (şəkil 3.14). Foyer və b. aparıcıları təcrübələr bu hipotezi təsdiq edir [Foyer et al., 1998].

İşıqda ferredoksin-tioredoxin sistemi vasitəsilə reduksiya olunan, xloroplastlarda redoks klapan kimi fəaliyyət göstərən NADF-MDH-nin ak-

tivləşməsi reaksiyasının məhsulu olan NADF ilə inhibirləşir. Buna görə də NADFH xloroplastlarda assimilyasiya prosesləri üçün sərf olunduqda NADF-MDH öz aktivliyini “söndürür”. Bunun sayəsində malat kimi reduksiyaedici ekvivalentlərin ixracı baş vermir [Scheibe, 1990; 2004]. Elektronlar malata köçürüldükcə ATF əmələ gəlməsi davam etdiyinə görə malat klapanı reduksiyaedici ekvivalentlərin dolayı ixrac sistemi kimi xloroplastlarda ATF/NADFH nisbətini tarazlaşdırmaq üçün faydalı üsuldur [Backhausen et al., 1998].

Hər bir bitki toxumasında aşkar edilən malat çox yayılmış üzvi turşudur. Krebs və qliksilat dövrənlərinin aralıq məhsulu olan malat C₄- və CAM- bitkilərdə CO₂ və reduksiyaedici ekvivalentlər üçün bitki metabolizmində mühüm rol oynayan mobil ehtiyat molekuludur [Lance, Rustin, 1984]. Belə güman edilir ki, malatın bir hissəsi xloroplastlarda piruvata çevrildikdən sonra bilavasitə yağ turşularının sintezində istifadə olunur [Krömer, Scheibe, 1996]. Osmotik təzyiğin dəyişmə vasitəsi kimi malatın akkumulyasiyası ağızçıqların tənzimlənməsinə təsir edir.

CO₂ və reduksiyaedici ekvivalentlərin daşıyıcısı və anabolik metabolizmdə karbon skeleti mənbəyi olan malat həm də üzvi turşu kimi hüceyrədə turşu/əsas tarazlığına təsir edə bilən vacib maddələrdən biridir. Bitki hüceyrələrinin turşulaşması onlarda malatın miqdarının sürətli azalmasına gətirib çıxarır və güman edilir ki, malatın dekarboksilləşməsi ilə bağlı olan protonların sərf olunması turşuluğa əks-təsir göstərir [Sakano, 1998]. Fermentlərin əksəriyyəti pH-ın optimumunun dar diapazonuna malik olduğu üçün, hüceyrə pH-na nəzarət olunması çox vacibdir. Bitki hüceyrəsinin pH-nın iki əsas yolla tənzimləndiyi güman edilir: plazmatik membranda protonla bağlı nasoslar və biokimyəvi pH-statı vasitəsilə [Davies, 1986; Sakano, 1998]. Belə hesab edilir ki, FEPK malatın sintezi və NADF-malik enzim onun dekarboksilləşməsi üçün cavabdehdir [Davies, 1986]. Bundan başqa, malat klapanı əlavə malatın akkumulyasiyasına yardımçı olur. Nəhayət, güman edilir ki, pH-ın yerdəyişməsi tarazlığın pozulmasına qarşı çıxan sistemləri induksiya edən siqnal rolunu oynayır [Felle, 2001].

QURAQLIĞIN BUĞDA YARPAQLARINDA NADF-MDH FERMENTİNİN AKTİVLİYİNƏ, İZOFERMENT SPEKTRİNƏ VƏ SUBHÜCEYRƏ PAYLANMASINA TƏSİRİ

Bitkilərin su stresinə qarşı davamlılığının səviyyəsi mənsub olduqları növlər və sortlardan asılı olaraq dəyişir [Lizana et al., 2006].

Quraqlığın fizioloji parametrlərinə görə fərqlənən buğda genotiplərinin yarpaqlarında NADF-MDH aktivliyinə, tizoferment spektrinə, subhüceyrə lokalizasiyasına, fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinə təsirini müqayə-

səli öyrənmək üçün kontrol və təcrübə bitkilərinin flaq yarpaqlarından MH-nin subhüceyrə fraksiyaları (sitozol, xloroplast, mitoxondri) ayrılmış və hər fraksiyadan yüksək dərəcədə təmizlənmiş ferment preparatı alınmışdır. Məlum olmuşdur ki, NADF-MDH-nin ümumi aktivliyinin təqribən 70%-i hər iki genotipin yarpaqlarında MH-nin xloroplastlarında, 20-25%-i sitozolda lokalizasiya olunmuşdur (cədvəl 3.7).

Cədvəl 3.7

Quraqlığın təsirindən buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında NADF-MDH fermentinin aktivliyinin subhüceyrə paylanması (A-xüsusi aktivlik-EU/mq zülal)

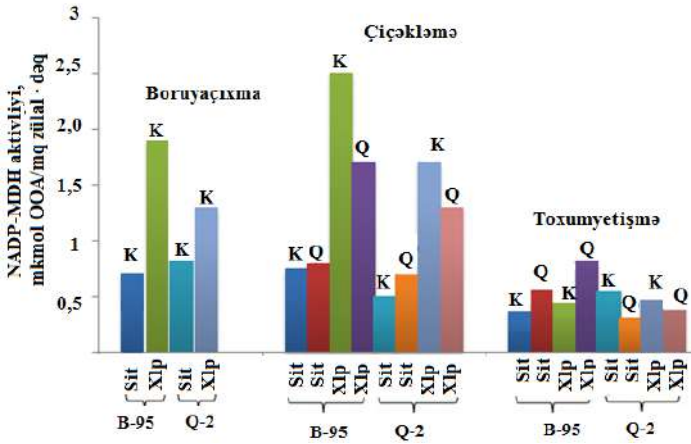
Genotip, Variant	NADF-MDH aktivliyi						
	Xloroplast		Sitozol		Mitoxondri		
	A	%	A	%	A	%	
Boruyaçıxmanın əvvəli							
Bərəkətli-95	K	15,69±1,4	92,11	1,41±0,57	7,89	-	-
	Q	-	-	-	-	-	-
Qaraqılçiq-2	K	17,85±1,22	94,35	1,07±0,68	5,65	-	-
	Q	-	-	-	-	-	-
Boruyaçıxmanın sonu							
Bərəkətli-95	K	16,9±2,4	86,18	2,71±1,4	13,82	-	-
	Q	12,35±1,6	86,12	1,99±2,11	13,88	-	-
Qaraqılçiq-2	K	11,93±1,5	85,64	2,0±1,82	14,36	-	-
	Q	10,98±1,43	85,48	1,88±1,43	14,62	-	-
Çiçəkləmə							
Bərəkətli-95	K	19,13±0,4	73,69	6,83±1,12	26,31	-	-
	Q	16,55±0,3	67,4	8,02±0,98	32,6	-	-
Qaraqılçiq-2	K	15,83±0,41	70,2	6,72±0,7	29,8	-	-
	Q	14,84±0,08	65,87	7,69±1,4	34,13	-	-
Dənyetişmə							
Bərəkətli-95	K	21,92±0,99	71,37	8,79±2,9	28,63	-	-
	Q	17,46±1,4	65,96	9,01±2,32	34,04	-	-
Qaraqılçiq-2	K	16,97±1,47	68,8	7,69±1,96	31,2	-	-
	Q	15,77±1,53	64,2	8,79±1,38	35,8	-	-

Qeyd: A-NADF-MDH aktivliyi-mkmol OA/mq zülal-dəq

NADF-MDH-nin molekulyar çəkisi elmi ədəbiyyatlarda tez-tez müzakirə olunan mövzulardan biridir [Edwards et al., 1985]. Buna görə də 7,5%-li PAA gel-elektroforez üsulundan istifadə etməklə fermentin izoferment tərkibi, lokalizasiyası və molekulyar çəkisi təyin olunmuşdur. Şəkil 3.15-dən gördüyü kimi sitoplazmatik fraksiyada normal suvarılan və torpaq quraqlığı

na məruz qalmış bitki nümunələrində MDH-nin izoformalarının sayı dəyişməsə də, zülalın miqdarında və aktivliyində dəyişkənliklər baş vermişdir (şəkil 3.15, 3.16).

Apardığımız tədqiqatlar nəticəsində Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin yarpaqlarının MH sitozolunda bitkinin inkişafının boruyaxıma mərhələsinin sonunda normal suvarma şəraitində fermentin 74 kDa molekul çəkili bir, xloroplastlarında isə 74 və 86 kDa molekul çəkili iki izoformasının olduğu aşkar olunmuşdur. Müəyyən olunmuşdur ki, genotiplərin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində kontrol və təcrübə bitkilərinin yarpaqlarının MH sitozolunda fermentin izoformalarının sayında heç bir dəyişkənlik baş verməmişdir. Sitozoldan fərqli olaraq, hər iki genotipin təcrübə bitkilərinin xloroplast fraksiyalarında molekul çəkisi 74 və 86 kDa olan konstitutiv izoformalarla yanaşı, 90 kDa molekul çəkili bir ədəd induktiv izoformanın əmələ gəldiyi müşahidə edilmişdir. Bu mərhələdə NADF-MDH-nin həm aktivliyi, həm də zülalın miqdarı Bərəkətli-95 genotipində Qaraqılçiq-2 ilə müqayisədə xeyli artmışdır (şəkil 3.15, 3.16).

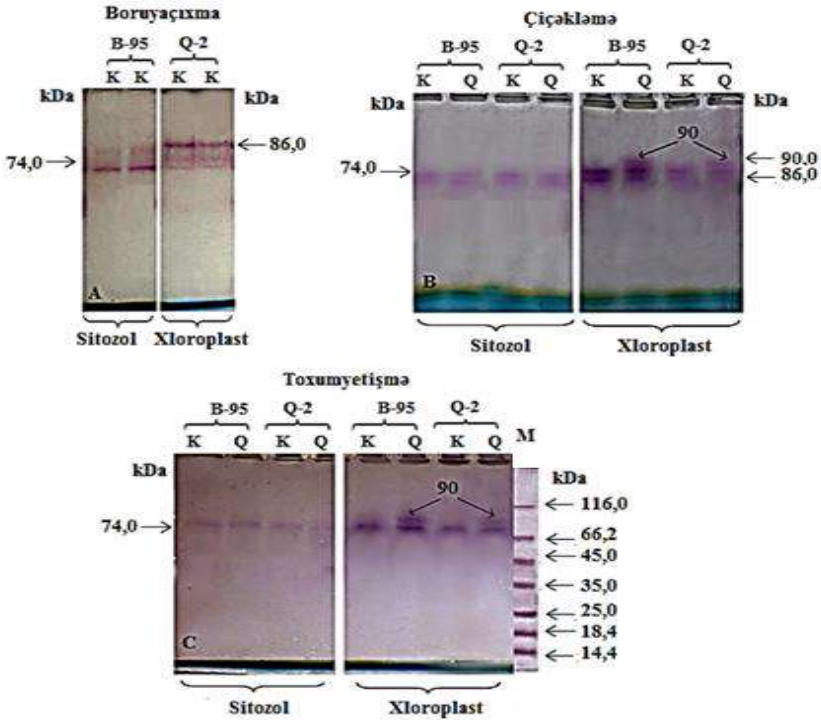


Şəkil 3.15. Qaraqılçiqda buğda genotiplərinin aktiv inkişaf mərhələlərində flaq yarpaqlarının MH-nin sitozol və xloroplast fraksiyalarında NADF-MDH aktivliyinin dəyişmə dinamikası. Sit-sitozol, Xlp-xloroplast; K-kontrol, Q-qaraqılçiq; B-95-Bərəkətli-95, Q-2-Qaraqılçiq-2

Fermentin izoformalarının subvahidlərinin molekul çəkisi uyğun olaraq, 21-45 kDa arasında yerləşir. Ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, bütün NADF-MDH-lər iki, yaxud dörd identik subvahiddən ibarətdir [Goward, Nicholls, 1994]. Xromatoqrafiya, ultrasentrifuqalaşdırma və başqa üsullardan istifadə edilməklə xloroplast fermentinin molekulu üçün, əsasən, dimer quruluşun xarakterik olduğu müəyyən olunmuşdur [Agostino et al.,

1992; Ocheretina et al., 1993]. Fermentin monomerlərinin molekulyar çəkisi təqribən 42 kDa-ya bərabərdir. Ferte və b. C₄-qarğıdalı və C₃-ispanaq bitkilərində NADF-MDH-nin struktur, immunoloji və kinetik xassələrini müqayisəli öyrənərkən müəyyən etmişlər ki, fermentin nativ (oksidləşmiş) və aktiv (reduksiya olunmuş) subvahidlərinin molekulyar çəkisi, uyğun olaraq 28 və 38 kDa-ya bərabərdir [Ferte et al., 1986].

Nəhayət, alınan nəticələrin ədəbiyyat məlumatları ilə müqayisəli təhlili onu deməyə əsas verir ki, digər bitki mənşəli MDH-lər kimi, buğda yarpaqlarının NADF-MDH-ləri də abiotik stres amillərinin təsiri sayəsində izoferment müxtəlifliyi əmələ gətirməklə adaptiv xassə daşıyırlar.



Şəkil. 3.16. Quraqlığın təsiri zamanı Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH-nin sitozol və xloroplast NADF-MDH izoformalarının gel-elektroforez üsulu ilə təyini. Bitkilərə boruyaçıxma mərhələsinədək quraqlıq tətbiq olunmamışdır. B-95-Bərəkətli-95, Q-2-Qaraqılçiq-2, K-kontrol, Q-quraqlıq, M-marker zülallar. Elektroforez 7,5%-li PAAG ilə +4°C temperaturda aparılmışdır. Hər yuvaya 4 mq/ml zülal alikvoti əlavə edilmişdir. NADF-MDH izoformalarının histokimyəvi tədqiqi zamanı NBT-nitrotetrazol göyündən istifadə olunmuşdur. Reaksiya mühitinin tərkibi: 200 mM L-malat-Na, 10 mM MnCl₂·4H₂O; 0,3 mM NADFH⁺; 0,01 M FMS və 0,01 M NTG tərkibə malik olan 0,1 M, pH-7,6 Tris-HCl buferi

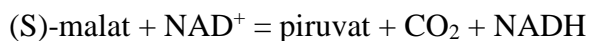
Müəyyən olunmuşdur ki, noxud və qarğıdalı yarpaqlarında xNADF-MDH 150 kDa molekul çəkiyə malik olub, 4 subvahiddən ibarətdir [Ashton, Hatch, 1983, Scheibe, Fickernscher, 1985; Fickenscher, Scheibe 1988]. Kaqava və Hatç [Kagawa, Hatch, 1977] müəyyən etmişlər ki, NADF-MDH-nin ditiolun əks-reduksiyası ilə aktivləşməsi zamanı qeyri-aktiv monomerin dimerləşməsi baş verir. Ashton və Hatch [Ashton, Hatch, 1983], Kaqava və Bruno [Kagawa, Bruno, 1988] fermentin redoks-aktiv və qeyri-aktiv formalarının oxşar molekul çəkiyə malik olduğunu təsdiq etmişlər. Amma birinci müəlliflər, ilk dəfə yalnız 150 kDa molekul çəkili tetramer formaları, ikinci müəlliflər isə 90 kDa molekul çəkili dimer formaları aşkar etmişlər. Fickenscher və Scheibe [Fickenscher, Scheibe, 1988] isə noxudun xloroplastlarında qeyri-aktiv (oksidləşmiş) C₃-tetramer fermentin tioredoksinlə reduksiyaya azmeyilli olan aktiv dimer formalarını müşahidə etmişdir. Bu nəticələrin qarğıdalı üçün doğru olub-olmadığı hələlik mübahisəlidir. Kaqava və Bruno [Kagawa, Bruno, 1988] müəyyən etmişlər ki, endogen proteazalar monomerlərin molekul çəkisi 43-dən 37 kDa-dək reduksiya edir və işıqda fermenti inaktivləşdirirlər.

Yuzbekov və Şmatkonun aldığı nəticələr göstərir ki, NAD-MDH aktivliyi NADF-MDH aktivliyindən ~6 dəfə yüksəkdir [Юзбеков, Шматько, 1994].

Beləliklə, qeyd etmək lazımdır ki, su stresinin ali bitkilərdə fotosintezə və bəzi fizioloji-biokimyəvi proseslərə mənfi təsirinə baxmayaraq, fermentin zülalının nativ quruluşunda, o cümlədən molekul çəkisində ciddi dəyişiklik törətmir və bitkinin fizioloji vəziyyəti, məhsuldarlığı və adaptasiya qabiliyyəti onun becəriləndiyi mühitdə stres amillərin təsiri altında formalaşan bəzi bioloji göstəricilərlə tənzim olunurlar.

NAD-MALİK ENZİM

Malik enzimlər (ME) L-malatın oksidləşməklə dekarboksilləşməsi reaksiyasını kataliz edirlər. Bu zaman bivalent kationların iştirakı ilə son məhsul olaraq piruvat, NAD(F)H və CO₂ əmələ gəlir [Chang, Tong, 2003]. Fermentin aktivliyinin təyini üçün reaksiya mühiti olaraq tərkibində 0,2 mM EDTA·4Na, 5 mM DTT, 5 mM L-malat·Na, 2,5 mM NAD⁺, 8 mM MnCl₂, 8,0 mM (NH₄)₂SO₄, 0,04% Triton X-100 və ferment ekstraktından ibarət olan 100 mM Tris-HCl buferi (pH-7,5) götürülmüşdür. Reaksiya mühitinə sonda MnCl₂ əlavə etməklə, reaksiyanın başlanmasına start verilmişdir. Reaksiyanı sxematik olaraq aşağıdakı kimi göstərmək olar:



ME-lər təbiətdə, o cümlədən bakteriyalarda, göbələklərdə, heyvanlarda və bitkilərdə geniş yayılmışlar. Bu fermentlərin sinifləri identifikasiya olunmuşdur. Onlardan dekarboksilləşdirici NAD-ME (EC 1.1.1.38) və NAD-ME (EC 1.1.1.39) kofaktor kimi NAD⁺ istifadə edirlər. Üçüncü ferment olan NADF-ME isə kofaktor kimi NADF istifadə edir və bitki orqanizmlərində fotosintez və qeyri-fotosintez proseslərdə iştirak edirlər [Drincovich et al., 2001; Honda et al., 2000]. ME-lərin başqa funksiyası bitkiləri stresin təsirindən mühafizə etməkdən [Pinto et al., 1999; Casati et al., 1999], yağ turşularının biosintezində [Shearer et al., 2004] və sitozolun pH-nın tənzimində iştirak etməkdən ibarətdir [Edwards, Andreo, 1992; Sakano, 1998].

NAD-ME, əsasən, bitki hüceyrələrində aşkar olunmuşdur. O C₄- və CAM- bitkilərdə karbon qatılaşdırma mexanizmi həyata keçirən üç dekarboksilləşdirici fermentdən biridir. NAD-ME-nin, əsasən, mitoxondrilərdə lokalizasiya olunmasına baxmayaraq, ona hüceyrənin sitozolunda da rast gəlinir [Wedding, 1989]. O NAD-ın iştirakı ilə malatı piruvata çevirir və əlavə olunan OA ilə qarşılıqlı təsirdə olmur [Chang, Tong, 2003].

Bu ferment intensiv biosintez və enerji prosesləri gedən bütün bitki toxumalarında, hər şeydən əvvəl ehtiyat orqanlarda, toxumlarda, çiçəkdə, meyvələrdə, kökdə və yarpaqda lokalizasiya olunmaqla, bir çox mühüm funksiyaları yerinə yetirir [Lance, Rustin, 1984]. Fermentin funksiyalarından biri də, bir çox C₄-bitkilərdə CO₂-nin FEP tərəfindən fiksasiyası nəticəsində yaranan malatı dekarboksilləşdirməkdən ibarətdir [Valenti, Pupillo, 1982]. Başqa bir funksiyası, substratlarının qatılığı Krebs dövrəsinə saxlamaq üçün kifayət etmədikdə malatın normal səviyyəsini təmin etməkdən ibarətdir [Canellas et al., 1984]. O, eyni zamanda mitoxondri daxilində oksidləşdirici dehidrogenazın (NAD-MDH) OA-nın yüksək qatılığı, kifayət qədər aşağı pH, yaxud da asetil-KoA-nın aşağı qatılığı ilə təcrid olunduğu şəraitdə malatın dolayı yolla oksidləşməsinə təmin edir və Krebs dövrəsinin reaksiyaları normal həyata keçirilir [Иванищев, Курганов, 1993; Пине́йру и др., 1991; Rustin, Lance, 1986]. NAD-ME malatı piruvata çevirmək yolu ilə mitoxondrilərdə OA-nın miqdarını azaltmaq, asetil KoA-nın qatılığını çoxaltmaqla Krebs dövrəsinin inhibirləşməsinə qarşısını alır [Rustin, Lance, 1986].

NAD-ME oksidləşdirici dekarboksilləşmə reaksiyasını kataliz edir, ekzogen OA-nı isə dekarboksilləşdirir bilmir [Диксон, 1982]. Bu xassəsinə görə NADF-MDH-dan fərqlənir. Ferment malata və metal ionlarına qarşı fərqli yaxınlıq göstərməklə bir neçə molekulyar formada olur [Пине́йру, 1991]. Ali bitkilərdə, əsasən, mitoxondrilərdə lokalizasiya olunaraq anaplerotik funksiya yerinə yetirir. NAD-ME dimer, tetramer və oktamer quruluşunda olduqda belə fəal olur və onun kinetik təsiri assosiasiya-dissosiasiya yolu ilə baş verir [Иванищев, Курганов, 1993].

NAD-ME üçün xarakterik olan reaksiyanın kinetik xassələri substratın (L-malat) 0,5-2 mM qatılıqlarında tədqiq olunmuşdur. Reaksiyanın K_m və V_{max} -ın təyini zamanı müəyyən olunmuşdur ki, ferment-substrat qarşılıqlı təsiri Mixaelis-Menten qanunauyğunluğuna tabedir. Proses siqmoidal kinetika ilə baş versə də reaksiyanın başlanğıc sürəti qeyri-xətti repressiya ilə Hill reaksiyasına tabedir. Müxtəlif qatılıqlarda aktivator və inhibitorlar fermentin aktivliyinə tənzimləyici təsir göstərir [Tronconi et al., 2010].

QURAQLIĞIN AMARANT VƏ BUĞDA YARPAQLARINDA NAD-ME FERMENTİNİN AKTİVLİYİNƏ, İZOFERMENT SPEKTRİNƏ VƏ SUBHÜCEYRƏ PAYLANMASINA TƏSİRİ

Bu tədqiqatları aparmaqda əsas məqsədimiz – uzunmüddətli torpaq quraqlığına məruz qalmış amarant və buğda bitkilərinin aktiv inkişaf mərhələlərində yarpaqlarda malatın dekarboksilləşmə reaksiyalarını kataliz edən NAD-ME fermentini müqayisəli öyrənməkdən ibarətdir.

Şəkil 3.17-dən görüldüyü kimi NAD-ME fermentinin normal suvarılan və quraqlığa məruz qalmış amarant bitkisinin inkişafının bütün mərhələlərində yarpaqların MH və ÖTH mitoxondrilərində lokalizasiya olunan izoformasının aktivliyi sitozola nisbətən həmişə yüksək olur. Bununla yanaşı, bitkinin inkişafının bütün mərhələlərində MH-nin sitozolunda lokalizasiya olunan NAD-ME aktivliyi ÖTH-nin sitozolunda lokalizasiya olunan NAD-ME aktivliyindən aşağı olur.

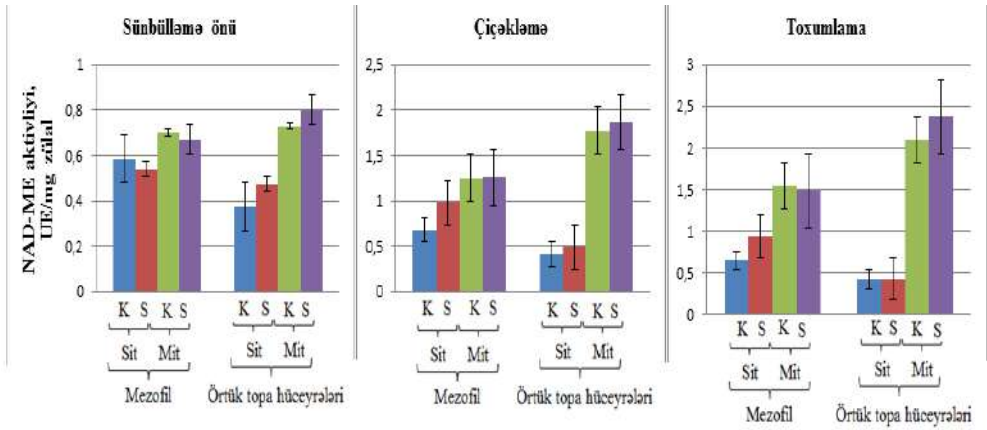
Apardığımız tədqiqatların nəticələrinə əsasən, amarantın inkişafının çiçəkləmə mərhələsində NAD-ME-nin ümumi aktivliyinin ~39 və ~47%-i MH sitozolunda, ~61 və ~53%-i isə uyğun olaraq, həmin toxumanın mitoxondrilərində, 26 və 29%-i ÖTH-nin sitozolunda, 83% və 80%-i isə uyğun olaraq, ÖTH-nin mitoxondrilərində lokalizasiya olunduğu aşkar edilmişdir. Bu da onların yerinə yetirdiyi fizioloji funksiyalar ilə əlaqədar ola bilər (cədvəl 3.8). MH və ÖTH-nin xloroplastlarında NAD-ME aktivliyi müşahidə olunmamışdır.

Yeprintsev və əməkdaşları müəyyən etmişlər ki, kontrol və stres şəraitində qarğıdalı yarpaqlarının MH və ÖTH-də NAD-ME-nin subhüceyrə lokalizasiyasına görə fərqlənən izoformaları vardır. Bunlardan, Rf-i 0,27 olan azhərəkətli izoforma stresin təsiri ilə yaranır və mitoxondrilərdə lokalizasiya olunur [Епринцев и др., 2011].

Elmi ədəbiyyatlarda NAD-ME-nin subhüceyrə lokalizasiyasına aid ziddiyyətli fikirlər vardır. Bəzi tədqiqatçılar NAD-ME-nin yalnız mitoxondrilərdə lokalizasiya olunduğunu göstərirlər [Winning et al., 1994]. Ueno göstərmişdir ki, *Amaranthus viridis* L. yarpaqlarında NAD-ME ÖTH və vaskulyar parenxim hüceyrələrinin mitoxondrilərində lokalizasiya olunmuşdur [Ueno, 2001].

Aldığımız nəticələr isə amarant yarpaqlarının MH sitozolunun və mitoxondrilərinin də müəyyən qədər NAD-ME aktivliyinə malik olduğunu göstərir.

Üzvi dikarbon turşularının dekarboksilləşməsi reaksiyalarının baş vermədiyi fraksiyalarda NAD-ME aktivliyinin aşkar olunması, görünür, onun başqa funksiyaları ilə əlaqədardır. Belə ki, ME-lərin reaksiya məhsulları bir çox biosintetik proseslərdə və tənəffüs metabolizmində iştirak edirlər. NADF- və NAD-ME-lər C₄-fotosintezdə və CAM-metabolizmində iştirak etməklə yanaşı, bitkinin müdafiə xarakterli cavabları [Müller et al., 2008], osmotik stesə qarşı davamlılıq [Liu et al., 2007], lipid və liqninin biosintezi [Casati et al., 1997], sitozolik pH-a nəzarət [Martinoia, Rentsch, 1994] və malat tənəffüsü [Tronconi et al., 2008] kimi qeyri-fotosintetik proseslərdə də müəyyən rola malikdirlər.



Şəkil 3.17. Quraqlıq şəraitində amarant bitkisinin inkişafının aktiv mərhələlərində yarpağın MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-ME aktivliyinin dəyişmə dinamikası. Sit-sitozol, Mit-mitoxondri, K-kontrol, S-stres

Buğda genotipləri və amarant bitkisi ilə aparılan təcrübələrin nəticələrinin təhlili göstərir ki, bu bitkilər fərqli sistemik qruplara mənsub olsalar da stres zamanı onlar arasında NAD-ME-nin mühafizəedici fəaliyyətində bir oxşarlıq mövcuddur.

Şəkil 3.18, A-da amarantın ontogenezinin sünbülləməözü mərhələsində yaşıl yarpaqların mezofil və örtük topa hüceyrələrinin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-malik enzimin izoenzim spektri verilmişdir. Elektroforetik analiz zamanı müəyyən olunmuşdur ki, NAD-malik enzimin izoferment tərkibinə görə normal suvarılan və torpaq quraqlığına məruz qalmış bitkilərin yarpaqlarının mezofil və örtük topa hüceyrələrinin sitozol fraksiyalarında lokalizasiya olunan izoformaları 115 kDa, örtük topa hüceyrələrinin mitoxondrilərində lokalizasiya olunan izoforma isə 110 kDa molekul çəkiyə malikdir. Hər iki toxuma və variantda xloroplastlarda NAD-malik enzimin izoformaları müşahidə olunmamışdır.

Quraqlığın təsirindən amarant bitkisinin ontogenezinə yarpaqların MH və ÖTH-də NAD-malik enzim aktivliyinin subhüceyrə paylanması

Hüceyrə tipi, variant		NAD-ME aktivliyi				
		Xlp	Sitozol		Mitoxondri	
			A	%	A	%
Çiçəkləməönü						
MH	K	-	0,68±1,1	37,1	1,15±2,4	62,9
	Q	-	0,91±0,4	39,8	1,37±2,58	60,2
ÖTH	K	-	0,39±1,3	25,0	1,17±1,83	75,0
	Q	-	0,18±0,09	9,4	1,73±2,0	90,6
Çiçəkləmə						
MH	K	-	0,59±0,99	38,8	0,93±1,74	61,2
	Q	-	0,87±0,03	46,8	0,99±1,93	53,2
ÖTH	K	-	0,47±0,87	26,7	1,29±2,04	83,3
	Q	-	0,47±0,06	29,2	1,14±1,77	80,8
Toxumlama						
MH	K	-	0,68±1,52	29,2	1,65±0,95	80,8
	Q	-	0,98±1,11	38,7	1,55±1,68	61,3
ÖTH	K	-	0,41±1,28	17,3	1,97±2,1	82,7
	Q	-	0,49±1,33	20,9	1,86±1,73	79,1
Vegetasiyanın sonu						
MH	K	-	0,65±2,01	29,9	1,54±2,05	70,1
	Q	-	0,94±1,99	38,7	1,49±1,64	61,3
ÖTH	K	-	0,42±2,4	17,1	2,04±1,57	82,9
	Q	-	0,43±1,25	17,8	1,98±1,91	82,2

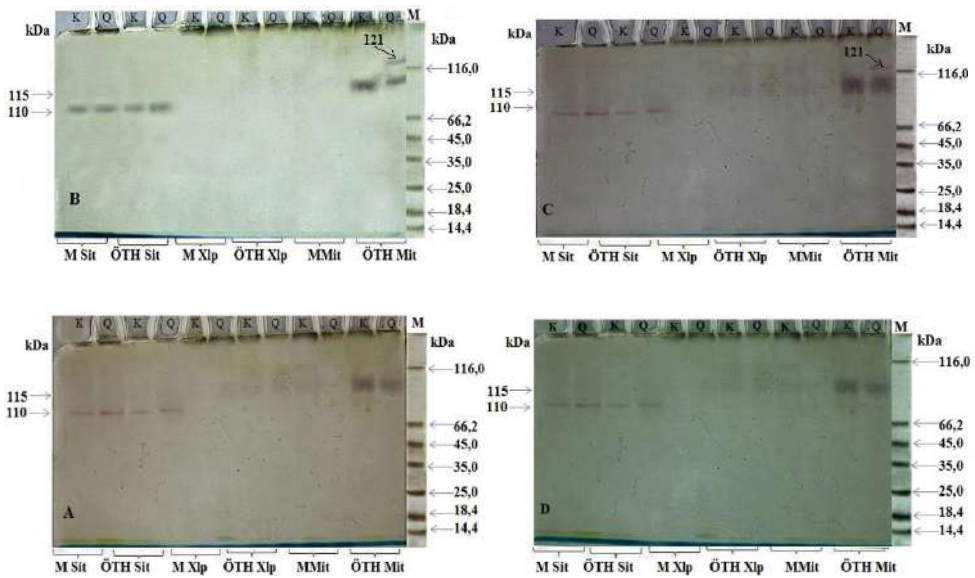
Qeyd: MH-mezofil hüceyrə, ÖTH-örtük topa hüceyrələri, K-kontrol, Q-quraqlıq, Xlp-xloroplast; A-xüsusi aktivlik EU/mq zülal

Şəkil 3.18, B-dən göründüyü kimi amarantın ontogenezinin çiçəkləmə mərhələsində quraqlığın təsirindən NAD-ME-nin izoferment dəyişkənliyi baş vermişdir. Bu mərhələdə MH və ÖTH-nin sitozolunda heç bir yenilik baş verməsə də normal suvarma şəraitində hər iki toxumanın mitoxondrilərində NAD-ME zülalının miqdarı təqribən 2-2,5 dəfəyədək artmışdır. Bundan fərqli olaraq, quraqlığın təsirindən ÖTH-nin mitoxondrilərində Rf-i 0,19 olan və 121 kDa molekul çəkiyə malik yeni izoforma əmələ gəlmişdir.

Şəkil 3.18, C-də toxumyetişmə mərhələsində amarantın assimilyasiyaedici toxumalarında NAD-ME-nin izoferment spektri göstərilmişdir. Şəkilədən göründüyü kimi yalnız bəzi izoformaların zülalının miqdarında azalma müşahidə olunmuşdur.

Şəkil 3.18, D – uzun müddət stressə məruz qalmış amarant bitkisini yenedən normal suvarma şəraitinə keçirdikdən sonra assimilyasiyaedici toxumalarda NAD-ME-nin izoferment spektrində baş verən dəyişiklikləri əks etdirir. Şəkildən görünür ki, stressdən sonra normal suvarma şəraitinə qaytarılan bitkilərin ÖTH mitoxondrilərində 121 kDa molekul çəkili izoforma yox olmuşdur ki, bu da onun adaptiv zülal olduğunu göstərir.

Duz stresinə məruz qalan qarğıdalı bitkisi ilə aparılan təcrübələr zamanı da buna oxşar nəticələr alınmışdır. Yeprintsev və əməkdaşları apardıqları tədqiqatlar zamanı müəyyən etmişlər ki, kontrol və stres variantlarında qarğıdalı yarpaqlarının MH və ÖTH-də NAD-ME-nin subhüceyrə lokalizasiyasına görə fərqlənən izoformaları vardır. Bunlardan Rf-i 0,27 olan azhərəkətli izoforma stresin təsiri ilə əmələ gələrək mitoxondrilərdə lokalizasiya olunmuşdur [Епринцев и др., 2011].

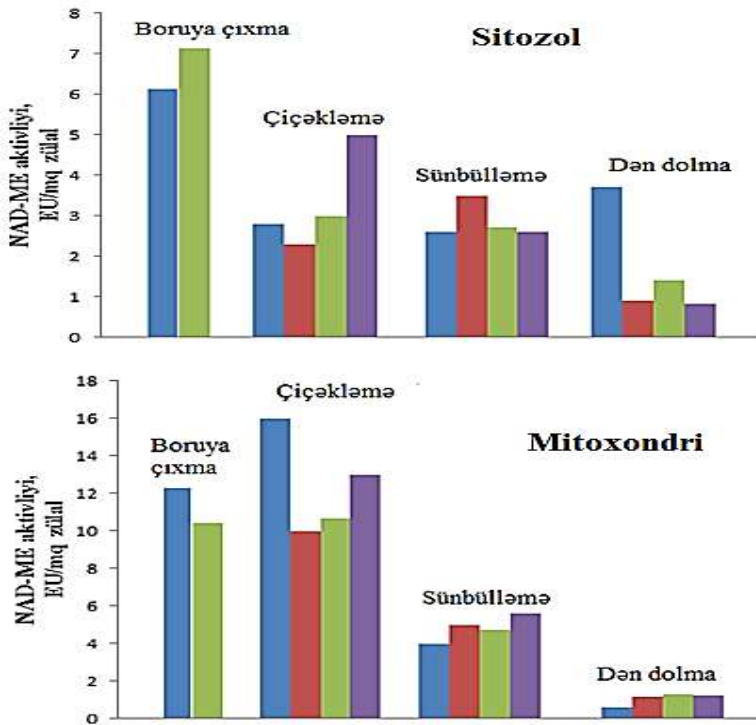


Şəkil 3.18. Quraqlıq şəraitində amarant bitkisinin yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-ME-nin izoferment tərkibinin elektrofoqramı. A-çiçəkləməöünü (stresin əvvəli); B-çiçəkləmə; C-toxumyetişmə mərhələləri; D-bitki toxumyetişmə mərhələsindən sonra yenedən normal suvarma mühitinə qaytarılmışdır. K-kontrol, Q-quraqlıq. NAD-ME-nin gəldə aşkarlanması 200 mM Tris-HCl buferində, pH-7,6 hazırlanmışdır və aşağıdakı tərkibə malikdir: 0,3 mM NAD⁺, 0,2 M L-malat-Na, 10 mM MnCl₂, 0,01 M FMS və 0,01 M NTG.

Amarant NAD-ME tip C₄-bitki olduğuna görə, dekarboksilləşmə reaksiyasının ÖTH-nin mitoxondrilərində getdiyini nəzərə alsaq görürük ki, bu fraksiyada NAD-ME aktivliyinin artması hesabına malatın dekarboksilləş-

məsinin sürətlənməsi yolu ilə fotosintezin Kalvin-Benson dövrünü üçün RBFK-nın CO₂ ilə normal təmin edildiyi fikrinə gəlmək olar. Bu nəticələrə uyğun olan ədəbiyyat məlumatları da vardır [Long et al., 1994].

Aldığımız nəticələr göstərir ki, C₄-fotosintez mexanizminə malik olan amarant bitkisi ilə müqayisədə buğda genotiplərində NAD-ME fərqli izoferment spektrinə malikdir. Yarpaqların MH-nin subhüceyrə fraksiyaları (sitozol, xloroplast, mitoxondri) izolə olunduqdan sonra gel-elektroforez üsulu ilə müəyyən olunmuşdur ki, NAD-ME, əsasən, buğda yarpaqlarının sitozol və mitoxondri fraksiyalarında lokalizasiya olunmuşdur. Belə ki, bu bitkilərin yarpaqlarının xloroplast fraksiyalarında fermentin aktivliyinə rast gəlinməmişdir (şəkil 3.19).

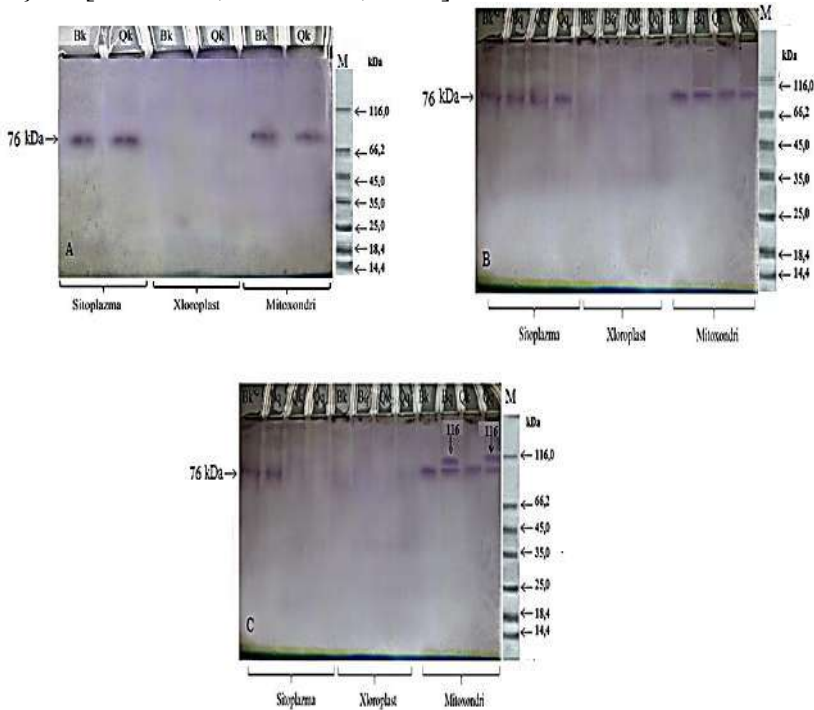


Şəkil 3.19. Quraqlığın Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH-nin sitozol və mitoxondri fraksiyalarında NAD-ME aktivliyinə təsirinin dəyişmə dinamikası. ■ Bərəkətli-95 sitozol kontrol, ■ Bərəkətli-95 sitozol quraqlıq, ■ Qaraqılçiq-2 sitozol kontrol, ■ Qaraqılçiq-2 sitozol quraqlıq, ■ Bərəkətli-95 mitoxondri kontrol, ■ Bərəkətli-95 mitoxondri quraqlıq, ■ Qaraqılçiq-2 mitoxondri kontrol, ■ Qaraqılçiq-2 mitoxondri quraqlıq

Şəkil 3.20-də göstərilir ki, buğda genotiplərinin inkişafının boruyaçıxma mərhələsində yarpaq hüceyrələrinin sitozol və mitoxondri fraksiyalarında kontrolada NAD-ME-nin molekulyar çəkisi 76 kD olan konstitutiv izoformasını vardır.

Torpaq quraqlığının təsirindən çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH-nin mitoxondri fraksiyalarında 116 kDa molekul çəkili bir ədəd induktiv izoforma əmələ gəlmiş və bu izoforma vegetasiyanın sonunadək öz mövcudluğunu saxlamışdır. Yalnız vegetasiyanın dəndolma mərhələsində Qaraqılçiq-2 genotipinin sitozolunda hər iki variantda fermentin aktivliyinə rast gəlinməmişdir.

Ümumiyyətlə, C₄-dövrünün fermentlərinin C₃-bitkilərin orqan və toxumalarında lokalizasiyasına dair işlər hələ keçən əsrin sonlarından başlayaraq alimlərin diqqətini özünə cəlb etmişdir [Caley et al., 1990; Imaizumi et al., 1990]. Yuzbekov və Şmatko tərəfindən alınan nəticələr də FEP-sistemi fermentlərinin (FEPK, NAD-, NADF-MDH, NAD-, NADF-ME, AsAT, AlAT) buğdanın flaq yarpaqlarında və sünbül elementlərində olduğunu təsdiq edir. Amma bu fermentlərin aktivliklərinin böyük hissəsi sünbül elementlərindən pulcuq, qılçiq və perikarplarda, az bir hissəsi isə yarpaqlarda lokalizasiya olunmuşdur [Юзбеков, Шматько, 1994].



Şəkil 3.20. Quraqlıq şəraitində Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-ME-nin izoform spektrinin gel-elektroforez üsulu ilə tədqiqi. A-boruyaçıxma; B-Çiçəkləmə, C-Dəndolma mərhələləri, Bk-Bərəkətli-95 kontrol, Bq-Bərəkətli-95 quraqlıq, Qk-Qaraqılçiq-2 kontrol, Qq-Qaraqılçiq-2 quraqlıq. NAD-ME-nin gəldə aşkarlanması 200 mM Tris-HCl buferində, pH-7,6 hazırlanmışdır və aşağıdakı tərkibə malikdir: 0,2 M L-malat-Na, 10 mM MnCl₂, 0,3 mM NAD⁺, 0,01 M FMS və 0,01 M NTG

C₄-turşuların metabolizminin bəzi fermentlərinin aktivliyinin buğdanın yarpaq və sünbül elementlərində iştirakı Yuzbekov və Şmatkoya görə C₄-turşuların metabolizminin C₃-bitkilərdə həyata keçirilməsinə və C₄-turşuların Calvin-Benson dövrünü üçün CO₂ mənbəyi rolunun olmasına xidmət edir. Müəlliflər göstərir ki, buğdanın flaq yarpaqlarında və sünbül elementlərində NAD-ME-nin aktivliyi NADF-ME aktivliyindən ~6 dəfə yüksəkdir [Юзбеков, Шматко, 1994].

Son illərdə C₄-turşuların metabolizmi fermentlərinin C₃-bitkilərdə fizioloji rolu haqqında intensiv elmi tədqiqat işləri aparılır. Bu nöqtəyi nəzərdən, aldığımız nəticələr əsasında deyə bilərik ki, bitkinin inkişafının boruyaçıxma mərhələsində kontrolda fermentin aktivliyinin 67%-i Bərəkətli-95, 59%-i isə Qaraqılçiq-2 genotiplərinin mitoxondri, 33- və 41%-i isə uyğun olaraq, sitozol fraksiyalarında lokalizasiya olunur (cədvəl 3.9).

Cədvəl 3.9

Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin ontogenezinin aktiv inkişaf mərhələlərində yarpaqlarda NAD-ME və NADF-ME fermentlərinin aktivliklərinin subhüceyrə paylanması (A-xüsusi aktivlik-EU/mq zülal)

Genotip Variant	NAD-ME				NADF-ME				
	Sitozol		Mitoxondri		Sitozol		Xloroplast		
	A	%	A	%	A	%	A	%	
Boruyaçıxmanın sonu									
Bərəkətli-95	K	6,12	33,3	12,25	66,7	8,43	13,7	53,2	86,3
	Q	-	-	-	-	-	-	-	-
Qaraqılçiq-2	K	7,13	40,7	10,4	59,3	12,4	23,3	40,76	76,7
	Q	-	-	-	-	-	-	-	-
Çiçəkləmə									
Bərəkətli-95	K	2,56	28,3	14,77	71,7	3,87	27,8	10,04	72,2
	Q	2,9	24,6	13,24	75,4	2,46	32,4	5,12	67,6
Qaraqılçiq-2	K	2,7	22,9	10,74	77,1	3,41	27,5	9,0	72,5
	Q	1,6	27,8	13,3	72,2	2,88	15,3	7,9	84,7
Sünbülləmə									
Bərəkətli-95	K	2,56	29,1	6,2	70,5	0,064	4,17	1,38	95,8
	Q	2,9	36,3	5,1	63,7	0,084	6,02	1,25	94,0
Qaraqılçiq-2	K	2,7	36,5	4,7	63,5	0,052	2,78	1,64	97,2
	Q	1,6	34,0	3,1	65,9	0,011	0,9	1,26	99,1
Dəndolma									
Bərəkətli-95	K	3,7	86,0	0,6	14,0	0,61	23,55	1,98	76,44
	Q	0,9	43,3	1,18	56,7	0,75	35,7	0,86	64,3
Qaraqılçiq-2	K	0,4	28,6	1,0	71,4	0,2	38,5	0,32	61,5
	Q	0,2	26,0	0,57	74,0	0,1	50,0	0,1	50,0

Bu göstəricilərin bitkilərin inkişafının çiçəkləmə, sünbülləmə, dəndolma mərhələlərində mitoxondrilərdə artması fermentin sitozolda lokalizasiya olunan izoformasının aktivliyinin azalması hesabına baş vermişdir. Sünbülləmə mərhələsində hər iki fraksiyada müəyyən qədər stabilləşmə getsə də dəndolma mərhələsində Qaraqılçiq-2 genotipinin sitozolunda fermentin aktivliyi minimum həddə enmişdir. Qaraqılçiq-2-dən fərqli olaraq, Bərəkətli-95 genotipində sünbülləmə və dəndolma mərhələlərində mitoxondridə fermentin aktivliyinin azalması hesabına sitozolda aktivlik 29%-dən 86%-ədək, quraqlıqda isə 36-dan 43%-dək artmışdır.

Qaraqılçiq-2 genotipinin sitozol fraksiyasında Bərəkətli-95 genotipindən fərqli olaraq, bitkinin inkişafının sünbülləmə və dəndolma mərhələlərində hər iki variantda fermentin aktivliyi, uyğun olaraq 37%-dən 29%-ə, quraqlığın təsirindən isə 34%-dən 24%-dək azalmışdır. mNAD-ME aktivliyində, əksinə, Qaraqılçiq-2 genotipinin mitoxondrilərində analogi şəraitdə artma baş vermişdir.

Buğda yarpaqlarında NAD-ME aktivliyi və lokalizasiyası amarant yarpaqlarına oxşar olmuşdur (şəkil 3.17-3.20; cədvəl 3.10, 3.11). Belə ki, Bərəkətli-95 genotipində çiçəkləmə mərhələsində NAD-ME aktivliyinin 71- və 75%-i kontrol və təcrübə bitkilərinin mitoxondri, 29- və 25%-i isə, uyğun olaraq sitozolda lokalizasiya olunmuşdur. Qaraqılçiq-2 genotipində oxşar nəticələr alınmışdır. Alınan nəticələr onu göstərir ki, NAD-ME, əsasən, mitoxondri fermenti olmaqla bitkinin energetik statusunun saxlanmasında iştirak edir.

NADF-MALİK ENZİM

NADF-malik enzim (NADF-ME; L-malat: NADF oksidoreduktaza, dekarboksilləşdirici, EC 1.1.1.40) NADF kofermentinin iştirakilə L-malatın oksidləşməklə dekarboksilləşməsi reaksiyasını kataliz edir və reaksiyanın məhsulu kimi piruvat, CO₂ və NADFH əmələ gəlir. Mg²⁺ və Mn²⁺ ionları bu reaksiyanın ən effektiv kofaktorları hesab olunurlar [Drincovich et al., 2001; Edwards, Andreo, 1992; Ryslava et al., 2007].

NADF-ME, FEPK və PFDK ilə birlikdə C₄-bitkilərin ÖTH-də Calvin-Benson dövrünün birinci fermenti olan Rubisko ətrafında CO₂-nin qatılşdırılması prosesində iştirak edir. Bu fermentlərin bütün bitkilərdə mövcud olan, amma fotosintezlə əlaqədar olmayan formaları hüceyrədaxili mühitdə pH-ın sabit saxlanmasında, Krebs dövrünün aralıq məhsullarının regenerasiyasında, aminturşuların, antioksidant sistemin biosintezinin NADF ilə təmin olunması kimi vacib funksiyaları həyata keçirirlər. Aktivliyi bəzi abiotik və biotik (virus infeksiyası) amillərin təsiri ilə artır. Alınan nəticələr göstərir ki, NADF-ME, FEPK və PFDK fermentləri optimal inkişaf şəraitinə nisbətən stres zamanı bitkilərə daha çox lazımdırlar [Doubnerova, Ruslava,

2011]. Bəzi CAM- bitkilərdə aşkar edilən digər fotosintetik izoformanın analoji rola malik olmasına baxmayaraq, onların subhüceyrə lokalizasiyası fərqlidir. Belə ki, C₄-tip ferment xloroplastlarda, CAM-tip ferment isə sitozolda lokalizasiya olunmuşdur [Drincovich et al., 2001] .

NADF-ME-yə eukariot və prokariot mikroorqanizmlər, C₃-, C₄- və CAM- bitkilər, heyvanlar və insan da daxil olmaqla canlı orqanizmlərin böyük əksəriyyətində rast gəlinir. Bitki mənşəli NADF-ME *A. thaliana* [Wheeler et al., 2005] və düyüdə məlum olduğu kimi, bir neçə gen ailəsi ilə kodlaşdırılır. Fermentin gen-ekspressiyası toxuma tipinə və ontogenezin mərhələsinə uyğun olaraq fərdi xüsusiyyətlərə malikdir [Wheeler et al., 2005].

Lokalizasiyasından və fizioloji-biokimyəvi funksiyasından asılı olaraq, NADF-ME-ləri aşağıdakı kimi qruplaşdırmaq olar:

1) C₄-NADF-ME(1)-bəzi C₄-bitkilərin ÖTH-nin xloroplastlarında aşkar edilmiş fotosintetik izoforma. Bu izoforma qarğıdalı, şəkər qamışı, sorqo və *Flaveria* növləri kimi bir sıra C₄-bitkilərdə aşkar olunmuşdur. Qeyd olunan bitkilərdə ferment ÖTH-nin xloroplastlarında lokalizasiya olunmaqla malatın dekarboksilləşməsi reaksiyasını kataliz edir. Bu izoformanın qarğıdalının yarpaq toxumalarında gen ekspressiyası işıqla tənzimlənir. Son illərdə aparılan tədqiqatlar zamanı bu fermentin UB-şüalanma nəticəsində baş verən zədələnmənin bərpası kimi yeni fizioloji funksiyası aşkar edilmişdir [Drincovich et al., 1998; Casati et al., 1998]. İkiləpəli *F. trinervia* və *F. bidentis* növləri ilə qarğıdalı növlərində NADF-ME-nin nukleotid ardıcılığı arasında ekstensiv oxşarlıq müşahidə edilsə də, onların putativ tranzit peptidləri arasında belə oxşarlıq aşkar olunmamışdır. Belə güman etmək olar ki, birləpəli və ikiləpəli C₄-bitkilərin təkamülü zamanı fermentin genlərinin bir hissəsinin inkişafı bir-birindən asılı olmadan getmişdir [Drincovich et al., 2001].

2) C₄-NADF-ME(2)-C₄-bitkilərin plastidlərində aşkar edilmiş qeyri-fotosintetik izoforma. Fermentin bu izoformasını birləpəli qarğıdalı bitkisinin etiolə olunmuş yarpaqlarında, köklərdə və plastidlərdə [Maurino et al., 2000] və ikiləpəli *F. bidentis* bitkisinde [Drincovich et al., 2001] identifikasiya olunmuşdur.

3) C₄-NADF-ME(3)-C₄-bitkilərin sitozolunda aşkar edilmiş qeyri-fotosintetik izoformadır. Hələlik qarğıdalı bitkisinde bu fermentin sitozolik izoformasını ayırmaq və xarakterizə etmək tam mümkün olmasa da, onu kodlaşdıran gen klonlaşdırılmışdır (GenBank AJ224847).

F. bidentis və *F. trinervia* C₄-bitkilərində NADF-ME-nin Southern blotting analizi göstərdi ki, hər iki bitkidə üç və bəlkə də dörd NADF-ME geni vardır. *F. trinervia* bitkisi üçün yeganə sitozolik NADF-ME olması təsdiq olunmuşdur. Belə ki, bu ferment yarpaqlarda inkişaf, zədələnmə və işıqlanmaya cavab olaraq müxtəlif cür ekspressiya edən çoxlu sayda transkriptlər əmələ gətirir [Drincovich et al., 2001].

4) CAM-NADF-ME(1) – bəzi CAM- bitkilərin sitozolunda aşkar edilmiş fotosintetik izoformadır. Bəzi CAM- bitkilər gecə fiksasiyası zamanı vakuollarda saxlanılan malatın dekarboksilləşməsi üçün mNADF-ME-lə birlikdə sNADF-ME də istifadə edirlər. Ayrılan CO₂ gün ərzində reduksiyaedici pentoza fosfat yoluna daxil olur. Bu fermentin C₄-NADF-ME(1) ilə analoji funksiyaya malik olmasına baxmayaraq, onların subhüceyrə lokalizasiyası fərqlidir [Drincovich et al., 2001].

5) CAM-NADF-ME(2) – bəzi CAM bitkilərin sitozolunda aşkar edilmiş qeyri-fotosintetik izoformadır. NADF-ME-nin qeyri-fotosintetik izoformaları fakültativ *M. crystallinum* [Drincovich et al., 2001] CAM bitkisinə və obliqat *A. arborescens* [Honda et al., 2000] CAM- bitkisinə aşkar edilmişdir.

6) C₃-NADF-ME(1) – bəzi C₃-bitkilərin sitozolunda aşkar edilmiş qeyri-fotosintetik izoformadır.

7) C₃-NADF-ME(2) – bəzi C₃-bitkilərin plastidlərində aşkar edilmiş qeyri-fotosintetik izoformadır.

Bitkilərdə NADF-ME-nin fizioloji rolu və lokalizasiyası ilə bağlı aparılan analizlər göstərir ki, CO₂ qazının fotosintetik assimilyasiyasında iştirak edən izoforma (C₄-NADF-ME (1) və CAM-NADF-ME (1)) daha yüksək spesifik aktivliyə malikdir. Reduksiya enerjisini istehlak edən qeyri-fotosintetik plastidlərdə bir neçə metabolik yolun mövcudluğuna əsaslanaraq bu orqanoidlərdə NADF-ME-nin (C₄-NADF-ME (2) və C₃-NADF-ME (2)) reduksiyaedici enerjinin təmin edilməsində mühüm və universal rola malik olmasını söyləmək olar. C₃-bitkilərdə olan sNADF-ME (C₃-NADF-ME (1)) şübhəsiz ki, bitkinin müdafiə sistemi ilə əlaqəlidir [Casati et al., 1999].

C₄-bitkilərin malat yarımqrupunda fermentin molekulyar-kinetik xassələri kifayət qədər yaxşı öyrənilmişdir [Edwards, Andreo, 1992]. NADF-ME ÖTH-nin xloroplastlarının stromasında fəaliyyət göstərməklə qaranlıq işıq və əksinə keçidlər zamanı pH fərqi nəzarətdə saxlayır. Müəyyən olunmuşdur ki, *in vitro*-da pH-7,0 və -8,0 qiymətlərində ferment müxtəlif xassələrə malik olur [İglesias, Andreo, 1990].

Yüksək təmizlənmiş ferment preparatı molekulyar çəkisi 220-240 kDa olan homotetramer struktura malikdir [Rhothornal, Nelson, 1989]. Ferment molekulunun oliqomer quruluşu malik olması pH, ion gücü və Mg²⁺ ionlarının qatılığı kimi bir sıra amillərdən asılıdır [Drincovich et al., 2001]. Hələlik fermentin monomerlərinin sayı dördədən çox olan oliqomer forması tapılmamışdır.

Bitkilərdə NADF-ME-nin iki formasının olduğu aşkar olunmuşdur: sitozol və xloroplast. Bunlardan birincisi, FEPK ilə birlikdə hüceyrədaxili pH-ın tənzimində iştirak edir [Doubnerova, Ruslava, 2011], xloroplast forması isə yalnız C₄-bitkilərin ÖTH-nin xloroplastlarında lokalizasiya olunmaqla C₄-turşuların dekarboksilləşməsi reaksiyasını kataliz edir [Hatch, 1982; Edwards, Andreo, 1992; Drincovich et al., 2001; Ryslava et al., 2007].

NADF-ME bitkilərin stresə qarşı metabolizm səviyyəsində cavab reaksiyaları ilə bağlı bir çox proseslərdə iştirak edir. Məlumdur ki, quraqlıq, duzluluq, soyuq kimi stres amilləri bitkilərin inkişafını zəiflətməklə bütün metabolizmə təsir edir. NADFH NADF-ME ilə kataliz olunan reaksiyanın məhsulu olmaqla, hüceyrənin detoksikasiyasının və proliferasiyasının inkişafını şərtləndirən əsas amillərdən biridir [Mateos et al., 2009]. O prolin, mannoza-6-fosfat, mannitol kimi osmotik aktiv maddələrin biosintezində istifadə olunur. Şiddətli stres su balansına təsir etməklə, turqorun yox olmasına və membranın dağılmasına gətirib çıxarır. Bitki hüceyrəsində şiddətli stresin təsirindən yaranan bu vəziyyət membran lipidlərinin regenerasiyasını tələb edir. NADF-ME piruvatı və NADFH yağ turşularının biosintezinə istiqamətləndirməklə regenerasiya prosesində iştirak edir [Drincovich et al., 2001; Edwards, Andreo, 1992]. Su balansına təsir edən stres amillər oksigenin aktiv radikallarının təkrar əmələ gəlməsini induksiya etməklə oksidləşdirici stres əmələ gətirirlər. Askorbat-qlütation dövriyyəsi kimi, bitkini oksidativ stressdən qorumaq üçün antioksidant müdafiə sistemində kofaktor kimi NADFH-nin olması vacibdir [Valderrama et al., 2006]. Duz stresində zeytun bitkisinin NADF-MDH NADF-ME və NADFH-la birlikdə reaktiv oksigen radikallarının detoksikasiyasında iştirak edir [Valderrama et al., 2006].

Transkripsiyon analiz nəticəsində müəyyən olunmuşdur ki, sNADF-ME1 polietilenqlikola (PEQ) və NaCl-a, sNADF-ME2 yalnız NaCl-a, sNADF-ME3 isə NaCl və mannitola cavab verir. Stressorun sNADF-ME2-yə təsirinin tədqiqi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, NADF-ME aktivliyi NaCl, PEQ, NaHCO₃ və Na₂CO₃ iştirakı zamanı artır [Liu et al., 2007]. Tütün bitkisinin də abiotik faktorların xNADF-ME1 və sNADF-ME2 təsiri öyrənilmişdir. PEQ, NaHCO₃ və Na₂CO₃ tütün yarpaqlarında NADF-ME aktivliyini və xNADF-ME1 transkripsiyasını artırır. NaCl da gövdədə fermentin transkripsiyasını artırmasına baxmayaraq, aktivliyin artmasına uyğun gəlmir [Muller et al., 2008]. Bütün bunları analiz edərək, Müller belə bir mülahizə yürütmüşdür ki, yarpaqda xNADF-ME1 stresə cavab verir, bu zaman sNADF-ME2 NADFH və piruvatı daşımaqla konstitutiv funksiya yerinə yetirir. Hələlik məlum deyil ki, stres zamanı xNADF-ME aktivliyinin artması nəyə xidmət edir. Burada ayrılan CO₂ ehtimal ki, Rubisko üçün əhəmiyyətlidir. NADFH isə, xüsusilə, sitozol üçün lazımdır. Beləliklə, sNADF-ME2-nin stressdə iştirakını qəbul etmək olmaz, ən azı ona görə ki, onun transkripsiyası xloroplasta nisbətən sitozolda daha yüksəkdir.

NADF-ME arpanın quraqlıqadavamlı iki genotipində quraqlıqda ekspressiya olunan 17 genlə təmsil olunmuşdur. Burada, NADF-ME-nin mümkün təklif olunan rolu su qıtlığı zamanı gün ərzində malatın deqradasiyasına və ağızcıqların bağlanması nəzarət etməkdən ibarətdir. İnandırıcı fakt ondan ibarətdir ki, ağızcıq hüceyrələrində üzvi anionların metabolizminin modulyasiyasına gətirib çıxaran NADF-ME ekspressiyasının artması quraqlıq

dan qaçmaq və suyu özündə saxlamaq müxanizminin yaranmasına xidmət edir [Guo et al., 2009; Laporte et al., 2002]. NADF-ME liqinin biosintezini NADFH ilə təmin edir, həmçinin malatın sintezi və deqradasiyasını tarazlaşdırmaq vasitəsilə sitozolun pH-nı tənzimləyir [Wheeler et al., 2005].

Uyğun olaraq, NADF-ME və FEPK *M. crystallinum* bitkisinde duz stresi nəticəsində C₃-metabolizmin CAM- metabolizmə keçidi zamanı da ekspressiya olunur [Muller et al., 2008].

NADF-ME, FEPK və PFDK C₄-fotosintezində iştirak edir. Fotosintetik məhsuldarlıq C₄-bitkilərdə C₃-bitkilərlə müqayisədə 1,5-2 dəfə çoxdur. Bəzi tədqiqatçılar C₃-bitkilərinin məhsuldarlığını artırmaq üçün C₃-bitkilərdə uyğun C₄-metabolik yolu yaratmağa çalışmışlar [Kai et al., 2007; 2009; Taniguchi et al., 2008]. FEPK-nın hiperekspressiyası baş tutan transgen C₃-bitkilərdə fermentin aktivliyi və malatın miqdarı yüksək olmuşdur, amma sonda CO₂-nin fotosintetik assimilyasiyasının yaxşılaşması müşahidə olunmamışdır. Bütün fermentlərin təkrar sintezi fotosintez az yaxşılaşdırsa da transgen bitkinin böyüməsinə təsir etməmişdir [Taniguchi et al., 2008]. Aparılan tədqiqatlara baxmayaraq, bu sahədə hələlik ümidverici nəticələr alınmamışdır. NADF-ME yarım tip C₄-fotosintezə malik olan bitkilərdə, Hetç-Slek dövründə CO₂-nin fiksasiyasında və nəqlində dekarboksilləşdirici NADF-ME və oksidləşdirici-reduksiyaedici NADF-MDH fermenti iştirak edir [Эдвардс, Уокер, 1986]. Bunlardan birincisi, biosintez reaksiyaları üçün NADFH-nin regenerasiyasını həyata keçirir, ikincisi isə fotofosforlaşmanın gedişində sintez olunan reduksiyaedici ekvivalentlərin sitoplazmaya daşınmasında mühüm rol oynayır [Эдвардс, Уокер, 1986; Иванищев, Курганов, 1993].

NADF-ME-nin katalitik aktivliyinin meydana çıxması üçün Mg²⁺ və Mn²⁺ ionları, OA-nın dekarboksilləşməsi reaksiyasında isə daha çox Mn²⁺ ionları tələb olunur [Hsieh et al., 2009]. Bu ferment ilk dəfə göyərçinin qara ciyərində, sonra mikroorqanizmlərdə, daha sonra bitki və heyvan toxumalarında tapılmışdır [Пине́йру, 1991]. Fermentin heyvan hüceyrələrində lokalizasiyasına və NADF⁺ spesifikliyinə görə fərqlənən 2 forması aşkar olunmuşdur. NADF-ME, həmçinin lipogeneza prosesində də iştirak edir [Wynn et al., 1999]. NADF-ME tip C₄-bitkilərdə o Calvin-Benson dövrünün CO₂ ilə təmin olunmasında başlıca rol oynayır [Эдвардс, Уокер, 1986]. Etiolo olunmuş C₄-bitkilərdə NADF-ME-nin üç qədər, normalda isə bir ədəd izoformasına aşkar olunmuşdur [Sommer et al., 2012].

Cədvəl 3.10-da NADF-ME, NADF-MDH və FEPK fermentlərinin aktivliklərinin buğda və qarğıdalı bitkilərinin yarpaq hüceyrələrində paylanması verilmişdir. Göründüyü kimi, bu bitkilərin yarpaqlarında NADF-ME fermentinin aktivliyinin 70%-i hüceyrələrin xloroplastlarında, təqribən 30%-i isə sitozolda lokalizasiya olunmuşdur [Maurino et al., 1997].

**Bəzi bitkilərdə NADF-ME, NADF-MDH
və FEPK-nın subhüceyrə paylanması**

Növ	Ferment	Aktivliyin paylanması, %		Mənbə
		Xloroplast	Sitozol	
Buğda	NADF-ME	70,5	29,5	Maurino et al., 1997
	NADF-MDH	67,9	32,1	
	FEPK	11,0	89,0	
Zea mays L.	NADF-ME	70,7	29,3	Maurino et al., 1997
	NADF-MDH	68,3	31,7	
	FEPK	12,5	87,5	

FEPK və PFDK-dan fərqli olaraq, ali bitkilərin xloroplastlarında NADF-ME üçün spesifik tənzimləyici zülal tapılmamışdır. C₄-bitkilərdə xloroplastların stromasında Mg²⁺-ionlarının qatılığının, pH-ın və işığın intensivliyinin artması nəticəsində NADF-ME-nin aktivliyi artır [Edwards, Andreo, 1992]. Transgen düyü bitkisinde qarğıdalının C₄-xüsusi izoformasını [Takeuchi et al., 2000; Tsuchida et al., 2001] və düyünün C₃-xüsusi izoformasının sintezi haqqında məlumatlar vardır [Tsuchida et al., 2001]. Güman olunur ki, qarğıdalı yarpaqlarında NADF-ME-nin fəaliyyəti fotosintezin və fotoinhibirləşmənin həssaslığını artırmaqla, NADFH/NADF nisbətini artırır, fototənəffüsü zəiflədir [Takeuchi et al., 2000; Tsuchida et al., 2001].

Cədvəl 3.12-də bəzi ali bitkilərin müxtəlif fotosintez mexanizmlərinə malik olan növlərində aktivliyi NADF-dən asılı olan MDH və ME-lərin, FEPK fermentlərinin aktivliyinin subhüceyrə paylanması, cədvəl 3.11-də isə NADF-ME-nin fiziki-kimyəvi və kinetik parametrləri əks olunmuşdur.

C₄-xüsusi NADF-ME C₃-xüsusi izoformalarla müqayisədə substratlar üçün daha yüksək V_{max} və daha aşağı K_m qiymətinə və yüksək pH optimumuna malikdir [Casati et al., 1997]. Bu xassələr C₄-bitkilərin ÖTH xloroplastlarında fermentin aktivliyinin dəqiq tənzimlənməsi üçün çox əlverişlidir. Amma onlar fermentə C₃-bitkilərin yarpaqlarında, hətta fəsillə bağlı zədələnmələr baş verəndə də fəaliyyət göstərməyə imkan verir. NADF-ME aktivliyi 50 mM Tris-HCl (pH-8,2), 20 mM MgCl₂, 0,5 mM NADF⁺ iştirakı şəraitində spektrofotometrik üsulla ölçülmüşdür [Ku et al., 1991].

**Bitkilərdə NADF-ME izoformalarının bəzi fiziki-kimyəvi
və kinetik parametrləri**

Obyekt	NADF-malik enzim fermentinin bəzi göstəriciləri						
	M, kDa	pH _{opt}	Xüsusi aktivlik, U/mg	K _m malat, mM	K _m NADF, mkM	K _m MgCl ₂ , mM	Mənbə
C ₄ -fotosintetik NADF-ME							
<i>Zea mays</i> L.	62	8,0	30,9	0,19	8,6	0,23-0,05	Drincovich et al., 1991
<i>H. persicum</i>	67	8,2	59,1	0,08	3,15	3,5-0,011	Casati et al., 1999
<i>F. floridana</i>	62	7,5	15,0	0,46	12,0	0,16-0,005	Casati et al., 1999
<i>F. bidentis</i>		7,5					Ashton, 1997
C ₄ -qeyri-fotosintetik NADF-ME							
<i>Zea mays</i> L. (yarpaq və kök)	72	7,5	1,4	0,02	6,5	0,22-0,09	Maurino et al., 2000
CAM-fotosintetik NADF-ME							
<i>M. crystallinum</i>	64	7,2	68,8	0,35	9,9	Yoxdur	Saitou et al., 1992
C ₃ -qeyri-fotosintetik NADF-ME							
Buğda	72	7,2	0,98	0,96	37,0	0,2-0,006	Casati et al., 1997
<i>Egeria dansa</i>	72	7,3	1,16	4,5	47,2	1,46	Casati et al., 2000

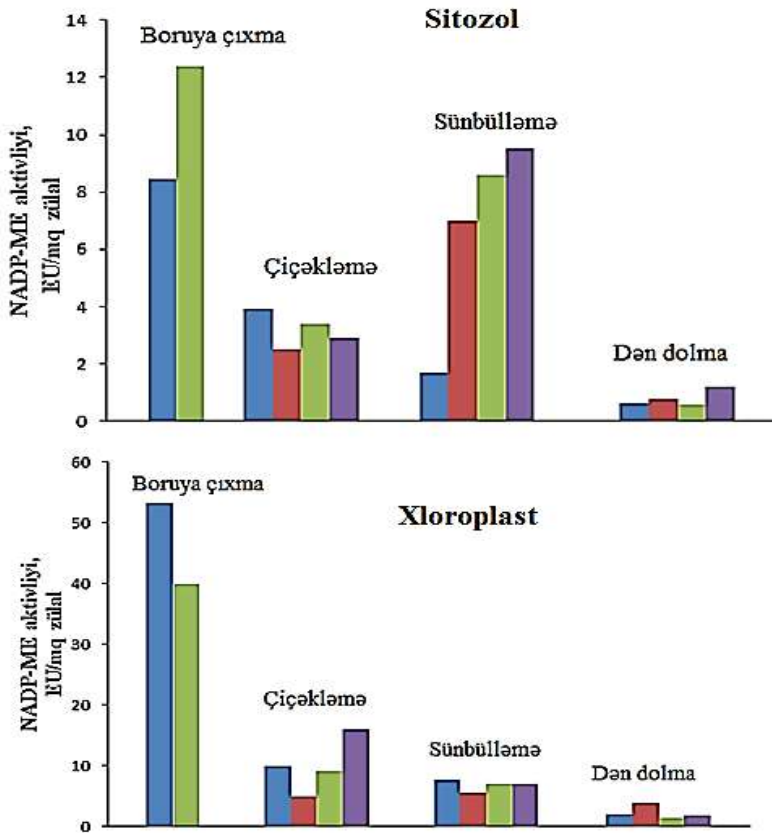
**QURAQLIĞIN BUĞDA YARPAQLARINDA NADF-ME
FERMENTİNİN AKTİVLİYİNƏ, İZOFERMENT SPEKTRİNƏ VƏ
SUBHÜCEYRƏ PAYLANMASINA TƏSİRİ**

Məlumdur ki, C₄-bitkilərin yarpaqlarının anatomik quruluşu üçün xarakterik olan C₄ sindrom və bununla əlaqədar mövcud metabolik proseslər təkamüldə stresə davamlılıq əlaməti kimi meydana gəlmişdir. Bu əlamətlərin yaranmasında iştirak edən dekarboksilləşdirici MDH-lər C₄-metabolizmin əsas həlqələrindən birini təşkil etməklə, fotosintezin yüksək intensivliyini təmin edirlər. Dekarboksilləşdirici fermentlərdən olan NADF-ME NADF-ME tip C₄-bitkilərin ÖTH-nin xloroplastlarında lokalizasiya olunmuşdur. C₃-bitkilərin MH-nin, əsasən, xloroplastlarında yerləşən NADF-ME bu bitkilərdə də mühüm metabolik funksiya yerinə yetirir [Sage et al., 2011].

Şəkil 3.21-dən göründüyü kimi, normal suvarılan bitkilərdə xNADF-ME aktivliyi sNADF-ME aktivliyindən 3-6 dəfə, sonrakı mərhələlərdə isə bu göstərici getdikcə azalaraq çiçəkləmə mərhələsində ~2-4 dəfə yüksək olmuşdur. Bitkinin ontogenezinin sünbülləmə mərhələsində isə fermentin ak-

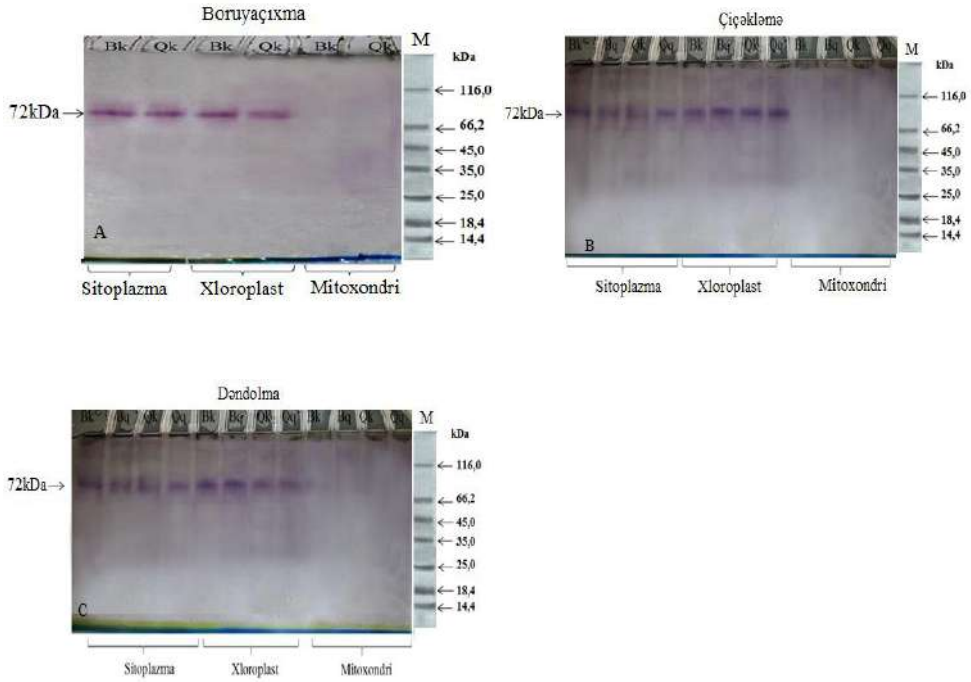
tivliyi getdikcə azalaraq bu izoformalarda bərabərləşmiş, dəndolma mərhələsində isə hər iki fraksiyada ən aşağı həddə çatmışdır. Ümumilikdə götürəndə sitozol fraksiyasında Qaraqılçiq-2, xloroplast fraksiyasında isə Bərəkətli-95 yüksək fermentativ aktivliyə malik olmuşdur.

Şəkil 3.22-dən görüldüyü kimi, Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin yarpaqlarının MH-nin sitozol və xloroplast fraksiyalarında bitkinin inkişafının aktiv mərhələlərində quraqlığın təsirindən heç bir izoforma dəyişkənliyi baş verməmişdir. Genotiplərin yarpaqlarında sitozol və xloroplast fraksiyalarında fermentin 72 kDa molekul çəkili yalnız bir izoformasını vardır. Quraqlığın təsirindən fermentin izoformasının sayında dəyişiklik baş verməsə də zülalın miqdarı artır.



Şəkil 3.21. Quraqlıqda buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH-nin subhüeyrə fraksiyalarında NADF-ME aktivliyinin dəyişmə dinamikası. ■ Bərəkətli-95 sitozol kontrol, ■ Bərəkətli-95 sitozol quraqlıq, ■ Qaraqılçiq-2 sitozol kontrol, ■ Qaraqılçiq-2 sitozol quraqlıq, ■ Bərəkətli-95 xloroplast kontrol, ■ Bərəkətli-95 xloroplast quraqlıq.

rəkətli-95 xloroplast quraqlıq, ■ Qaraqılçiq-2 xloroplast kontrol, ■ Qaraqılçiq-2 xloroplast quraqlıq



Şəkil 3.22. Quraqlıqda buğda genotiplərinin MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NADF-ME izoferment spektrinin gel-elektroforez üsulu ilə tədqiqi. A-Boruyaxıxma; B-içəkləmə, C-dəndolma mərhələləri, Bk-bərəkətli-95 kontrol, Bq-Bərəkətli-95 quraqlıq, Qk- Qaraqılçiq-2 kontrol, Qq-Qaraqılçiq-2 quraqlıq. NADF-ME üçün reaksiya mühitinin tərkibi: 50 mM Tris-HCl bufer, pH-8,3 – 100 ml, 1 M L-malat-Na, pH-7,0 – 3 ml, 1 M $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ – 0,2 ml, NADF-20 mq, NTG-15 mq, EDTA-30 mq, FMS-3 mq

Nəhayət, aparılan təcrübənin nəticələri göstərir ki, Bərəkətli-95 genotipinin yarpaqlarında normal suvarılan nümunələrdə NADF-ME aktivliyinin 96%-i, su stressi şəraitində becərilmiş bitki nümunələrində isə 94%-i MH-nin xloroplast, 4,2 və 6%-i isə uyğun olaraq, sitozol fraksiyada lokalizasiya olunmuşdur. Qaraqılçiq-2-genotipində oxşar tendensiya müşahidə olunmuşdur. Göstərilən toxumalarda mNADF-ME aktivliyi müşahidə olunmamışdır (cədvəl 3.12).

**Quraqlıqda buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində
yarpaqların MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NADF-ME
aktivliyinin subhüceyrə paylanması**

Genotip	Variant	Çiçəkləmə mərhələsi					
		Xloroplast		Sitozol		Mitoxondri	
		A	%	A	%	A	%
NADF-malik enzim							
B-95	K	1,38	95,83	0,0642	4,17	-	-
	Q	1,25	93,98	0,0836	6,02	-	-
Q-2	K	1,643	97,22	0,0515	2,78	-	-
	Q	1,257	99,1	0,0113	0,9	-	-

Qeyd: -kontrol, Q-stres, B-95- Bərəkətli-95, Q-2- Qaraqılçiq-2, A-xüsusi aktivlik, EU/mq zülal

IV FƏSİL

FERMENTLƏRİN FİZİKİ-KİMYƏVİ VƏ KİNETİK XASSƏLƏRİ

MDH FERMENTLƏRİNİN FİZİKİ-KİMYƏVİ VƏ KİNETİK XASSƏLƏRİNİN QISA İCMALI

NAD-MDH fermenti müxtəlif üsullar tətbiq etməklə bitki və heyvan hüceyrələrindən, o cümlədən mikroorqanizmlərdən homogen təmizlənmiş və kristallaşdırılmışdır [Алиев, Гулиев, 1990; Сатар и др., 2010; McEvily et al., 1985; Ohshima, Sakuraba, 1986]. Fermentin aktivliyinin uzun müddət stabil və fəal olması, elmi tədqiqatlarda daha geniş istifadə edilməsinə şərait yaradır [Игамбердиев и др. 1995; Иванищев, Курганов, 1992].

Fermentlərin əsas fiziki-kimyəvi xassələrindən biri, onların molekul çəkirlərinin təyiniidir. Fermentlərin molekul çəkirləri, alındığı mənbədən asılı olaraq dəyişir. Bir qrup bakteriyalar, mikroyosunlarda NAD-MDH fermentinin molekul çəkisi 100-500 kDa arasında dəyişir. Ponnusvami və əməkdaşları ion dəyişdirici xromotoqrafiya və gel-filtrasiya üsulu ilə *P. aeruginosa* bakteriyasından NAD-MDH fermentinin homogen təmizlənmiş preparatını almışlar. Onlar müəyyən etmişlər ki, nativ ferment molekulu 70,5 kDa molekul çəkiyə malik olub, hər birinin molekul çəkisi 36 kDa olan iki subvahiddən ibarətdir. NAD-MDH reaksiyası mühitin pH-8,0-da yüksək aktivliyə, pH-7,0-da isə yüksək stabilliyə malik olur. NAD-MDH 40°C temperaturda malatın oksalasetata dönər reaksiyasını daha sürətlə kataliz edir. Fermentin kataliz etdiyi reaksiya $K_m(OA)$ 10 mkM olduqda daha sürətlə gedir [Ponnuswamy et al., 2011].

Satar və b. [Сатар и др., 2010] *Sphaerotilus natans* D-507 ştammindən Rf-ləri 0,45 və 0,5, xüsusi aktivliyi isə 2,78 və 3,37 E/mq zülal, siçovulun qara ciyərindən isə Rf-ləri 0,34, 0,22 və 0,15, alloksan diabeti ilə induksiya olunmuş siçovulun qara ciyərindən isə xüsusi aktivliyi 2,19, 1,77 və 4,29 E/mq zülal olan təmiz ferment preparatı almışlar.

Bütün məməlilərdə, bitkilərdə və bəzi bakteriyalarda MDH-lər homodimer quruluşda olub, subvahidlərin molekul çəkirləri NAD-MDH üçün 32-37 kDa, NADF-MDH üçün isə 42-43 kDa-a bərabərdir [Gietl, 1992].

Elektroforetik analizin nəticələrinə görə bəzi bitkilərdə fermentin yüksək molekul çəkiyə malik olması, onların başqa zülal və fermentlərlə aqreqasiya edərək kompleks əmələ gətirmək xassəsi ilə izah olunur [Иванищев, Курганов, 1992]. Homogen təmizlənmiş ferment molekulinin 60-70 kDa

molekul çəkiyə malik olması [Ohshima, Sakuraba, 1986], onların 30-45 kDa molekul çəkiyə malik subvahidlərdən ibarət olduğunu göstərir.

Müxtəlif mənşəli NAD-MDH-lər OA üçün K_m 5,7-180 μM , NADH üçün K_m 4-324 μM və NAD üçün K_m 0,1-1 mM olduqda müəyyən həssaslığa malik olurlar. Fermentin malata həssaslığı K_m 0,05-25 mM həddlərində dəyişir [Иванищев, Курганов, 1992].

NADF-MDH-nin molekul çəkisi NAD-MDH-nin molekul çəkisinə nisbətən yüksək olur ki, bu da fermentin zülalında bir neçə aminturşu qalığının çox olması ilə əlaqədardır. Məsələn, C_4 -bitki – qarğıdalının saçaqlarında sNAD-MDH 80 kDa molekul çəkiyə malik olduğu halda, həmin bitkinin yarpaqlarında xNADP-MDH-nin molekul çəkisi 150 kDa-a bərabərdir. Aşton və Hatçin [Ashton, Hatch, 1983] nəticələrində göstərilir ki, NAD-MDH homodimer olub, subvahidlərinin molekul çəkisi 36 kDa, NADF-MDH isə homotetramer olub, subvahidlərinin molekul çəkisi 38 kDa-a bərabərdir. C_3 gənəgərçək bitkisinin (*Ricinus L.*) endosperm hüceyrələrində mNAD-MDH 85 kDa molekul çəkiyə malik olub, molekul çəkisi 42 və 35 kDa olan iki subvahiddən ibarətdir. Həmin bitkidə qNAD-MDH 65 kDa molekul çəkili olub, molekul çəkisi 33 kDa olan homodimer struktura malikdir. Digər izoformalardan fərqli olaraq sNAD-MDH 115 kDa molekul çəkiyə malikdir və subvahidlərinin molekul çəkisi 30 kDa olan homotetramerdən ibarətdir. Soya bitkisinin kök hüceyrələrində mNAD-MDH-nin molekul çəkisi 69 kDa olub, molekul çəkili 37 və 39 kDa olan iki heterodimer subvahiddən, ispanaq bitkisinin yarpaqlarında pNAD-MDH molekul çəkisi 70 kDa olub, hər birinin molekul çəkisi 33 kDa olan iki homodimer subvahiddən ibarətdir [Weininger et al., 1977].

Noxud və qarğıdalı yarpaqlarında xNADF-MDH homogen şəkildə alınmışdır. Bu obyektlərdə fermentin 4 subvahiddən və hər birinin molekul çəkisinin 150 kDa olduğu göstərilmişdir [Ashton, Hatch, 1983; Scheibe, Fickernscher, 1985]. NADF-MDH OA üçün K_m 18-56 μM , NADFH üçün 24-70 μM , NADF üçün 40-250 μM olduqda yüksək həssaslığa malik olsa da, malata qarşı həssaslığı xeyli aşağıdır (2-30 mM). Bütün bunların bitki hüceyrəsində substratın qatılığının yüksək olması ilə əlaqədar olduğu güman edilir [Lance, Rustin, 1984].

Dekarboksilləşdirici NAD-ME fermentinə, demək olar ki, bütün canlılarda rast gəlinir. NAD-ME-nin mikroorqanizmlərdə molekul çəkisi 500 kDa olan dimer, tetramer və oktamer izoformalarının bioloji aktivliyə malik olduğu göstərilmişdir [Иванищев, Курганов, 1992]. Bitki mənşəli NAD-ME-lər heterodimer olub molekul çəkili 58 və 62 kDa-a bərabərdir. Fermentin NAD və NADH-yə həssaslığı yüksək olmayıb, K_m -i təqribən substratın fizioloji qatılığına bərabərdir [Hatch, Mau, 1977; Canellas, et al., 1984; Tronconi et al., 2008; 2010].

NAD-ME reaksiya mühitinin pH-6,7-7,2 hüdudlarında daha optimal aktivliyə malik olur [Wedding, 1989]. Digər dekarboksilləşdirici ferment olan NADF-ME molekulu 4 subvahiddən ibarət olub, molekul çəkisi 230-280 kDa hüdudlarında yerləşir. Bundan fərqli olaraq fermentin mikroorqanizmlərdə molekul çəkisi 550 kDa olan oktamer, yaxud molekul çəkisi 105 kDa olan dimer formasının olduğu aşkar edilmişdir [Персанов и др. 1976]. NADF-ME-nin substrata həssaslığı geniş hədudda dəyişir. Məsələn, K_m (malat) 0,018 - 3,7 mM-a; K_m (NADF) 3-780 μ M; K_m (piruvat) 2,3-11,2 mM; K_m (NADFH) 3,3-102 μ M və K_m (CO₂) üçün 0,45-11 mM olduğu reaksiya daha sürətlə baş verir. Malatın fermentativ dekarboksilləşməsi reaksiyası mühitinin pH-6,5-8,5 hüdudlarında daha böyük sürətlə gedir [Иванищев, Курганов, 1992; Wedding, 1989].

MDH sistemi fermentlərinin kataliz etdikləri reaksiyaların ferment-substrat qarşılıqlı təsiri Mixaelis-Menten mexanizminə tabedir [Mınarik et al., 2002]. Bu mexanizmə əsasən, əvvəlcə koferment fermentin fəal mərkəzinə daxil olaraq onu aktivləşdirir, sonra aktivləşmiş ferment öz substratı ilə qarşılıqlı təsirdə olaraq, davamsız ferment-substrat kompleksi [ES] əmələ gətirir. Daha sonra [ES] kompleksi parçalanaraq reaksiyanın son məhsullarını əmələ gətirir və nəticədə ferment sərbəstlik qazanır [Goward, Nicholls, 1994; Kim, Guiltinan, 1999]. Müxtəlif mənbələrdən homogen alınmış NAD-MDH izoformalarının kinetik parametrlərini müqayisə etdikdə məlum olur ki, malatın katalitik çevrilməsi reaksiyası OA-ya nisbətən az effektivdir [Пинейру и др., 1991]. Məlumdur ki, MDH düzünə və dönər reaksiyada kinetik parametrlərinə uyğun olaraq, digərindən fərqlənən iki müxtəlif konformasiya vəziyyəti alır [Блюменфельд, Плешанов, 1986]. Ortamüddətli triptofan fluoresens zülalların köməyi ilə müəyyən olunmuşdur ki, triptofan qalıqlarına qarşı fermentin həssaslığı MDH-nin konformasiyon vəziyyətlərinin dəyişməsinə səbəb olur və nəticədə birbaşa reaksiya 10,9 ms, əks-reaksiya 2,6 mc davam edir. Düzünə reaksiyanın tədqiqi onu göstərir ki, malatdan elektronların NAD⁺-a daşınması üçlü ferment-koferment-substrat kompleksi yarandıqdan sonra baş verir. Bu keçiddən sonra reaksiyanın sürəti kəskin azalır və nəticədə malatın oksidləşməsi reaksiyasında MDH-nin katalitik effektivliyi zəifləyir. Dönər reaksiyanın tədqiqi zamanı isə tamamilə fərqli nəticələr alınmışdır. Müəyyən olunmuşdur ki, reaksiya zamanı OA çevrilməsinin MDH strukturunda baş verən konformasiya dəyişkənlikləri ilə heç bir əlaqəsi yoxdur. Mühitə substrat əlavə olunan kimi kimyəvi çevrilmə başlayır və bir neçə fermentativ dövr ərzində dəyişməz sürətlə davam edir [Блюменфельд, Плешанов, 1986].

Beləliklə, müxtəlif mənbələrdən alınmış NAD-MDH-lərin OA ilə müqayisədə malata və NAD⁺-a qarşı yaxınlığı aşağı səviyyədədir (cədvəl 4.1).

Malatın oksidləşməsi və OA-nın reduksiyası reaksiyalarının K_m -i geniş hüddə dəyişir.

Cədvəl 4.1

Bəzi bitkilərdə NAD-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın kinetik parametrləri

Obyekt	Subhüceyrə fraksiyası	Malatın oksidləşməsi		OA-nın reduksiyası		Mənbə
		K_m malat, mM	K_m NAD ⁺ , mM	K_m OA, mM	K_m NADH, mM	
C₄ bitkilər						
Qarğıdalı yarpaqları	Xloroplast	24,0	0,045	0,018	0,05	Ashton, Hatch, 1983
Qarğıdalı saçağı	Sitozol	18,2	0,13	2,0	0,1	Ashton, Hatch, 1983
C₃ bitkilər						
Qarğız, ləpə yarpağı	Qlioksisom	3,7	0,46	0,13	0,16	Пине́йру и др., 1991
Gənəgərçək endospermi	Mitoxondri	5,8	0,56	1,4	0,25	Пине́йру и др., 1991
Gənəgərçək endospermi	Qlioksisom	34,6	0,87	1,9	0,36	Пине́йру и др., 1991
İspanaq yarpaqları	Peroksisom	3,33	0,34	0,06	0,16	Weininger et al., 1977
Göbələklər						
Mucor pusillus	Sitozol	5,88	0,1	0,12	0,03	Wall, Wattoo, 1984
Bakteriyalar						
Taenia crassiceps		0,14	0,12	0,078	0,06	Zenka, Prokopic, 1989
Rhodo-pseudomonas capsulata		2,1	0,048	0,085	0,025	Ohshima, Sakuraba, 1986

Belə mülahizə olunur ki, malat OA və NADH-nin yüksək qatılıqlarında fermenti inhibirləşdirir. Tədqiqatçılar buna səbəb kimi effektiv olmayan MDH-malat-NADH kompleksinin və məhlulda bu substratların qatılığının artması nəticəsində yavaş parçalanan MDH-NADH-OA kompleksinin əmələ gəlməsini göstərirlər [Mahmoud et al., 1995; Wise et al., 1997]. Bəzi müəlliflərin fikrincə isə OA-nın yüksək qatılığında ferment inhibirləşmir [Miku-

lasova et al., 1998] və malat yüksək qatılıqda NAD-MDH-yə aktivləşdirici təsir göstərir [Dordal et al., 1990].

Müxtəlif mənbələrdən alınmış MDH-lərin izoformaları mühitin pH-nın dəyişməsindən asılı olaraq, müxtəlif katalitik aktivliyə malik olurlar. Məhlulun pH-ı molekul daxilində yüklərin paylanmasına, fermentin aktiv mərkəzini təşkil edən əsas və turşu xassəli aminturşu qalıqlarının (dikarbon turşularında COOH-qrupu, sisteyinin SH-qrupu, histidinin imidazol azotu, lizinin NH₂ qrupu və s.) ionlaşma dərəcəsinə təsir göstərməklə, zülal molekulunun fəza quruluşunun stabilləşməsində mühüm rol oynayır. pH-ın müxtəlif qiymətlərində aktiv mərkəz hissəvi ionlaşmış və ionlaşmamış vəziyyətdə ola bilər ki, bu da zülalın üçüncü strukturunda və uyğun olaraq, aktiv ferment-substrat kompleksinin formalaşmasında özünü göstərir. Reaksiya mühitinin pH-nın dəyişməsi isə əksinə olaraq, turşu və əsasi qrupların dissosiasiya sabitinin dəyişməsinə və fermentin təsir mexanizminin pozulmasına gətirib çıxarır [Козн, 1986]. Fermentativ kinetikada substratların və kofaktorların da ionlaşması baş verə bilər.

Cədvəl 4.1-də bitki mənşəli MDH-lərin bəzi kinetik parametrləri əks olunmuşdur. MDH-lərin yalnız mitoxondri izoformasında sitrat vasitəsi ilə allosterik tənzimlənmə müşahidə edilmişdir [Goward, Nicholls, 1994].

Düzünə və dönən reaksiyanın pH optimumları bir-birinə qətiyyənlə uyğun gəlmir və MDH hidrogen ionlarının daha aşağı qatılıqlarında OA-nın reduksiyası reaksiyasını maksimal sürətlə həyata keçirir. Tədqiqatçılar düzünə və dönən reaksiyaların pH optimumlarının fərqli olmasının səbəbini MDH substratlarının oksidləşmə və reduksiyasının iki müxtəlif konformasiyon vəziyyəti, katalitik aktıda iştirak edən aminturşu qalıqlarının rolundakı fərqlərlə əlaqələndirirlər [Блюменфельд, Плешанов, 1986].

Beləliklə, MDH OA reduksiyası reaksiyasında optimum pH-ı 6,0-8,5 [Пине́йру и др., 1991; Banu et al., 1992; Irwin et al., 2001; Aquino-Silva et al., 2003], malatın oksidləşməsi reaksiyasında isə 9-11-ə [Пине́йру и др., 1991; Shah, Andrews, 1994], mikroorqanizmlərdə bu göstəricinin 8,0-9,2; bitki kökləri və qarğıdalı toxumları üçün isə reaksiya mühitinin optimal pH-nın 7,7-8,1 həddlərində olduğu aşkar olunmuşdur. Bəzi ədəbiyyat məlumatlarında OA-nın malata reduksiya reaksiyasının optimum pH-nın 8,5-9,4 aralığında olduğu göstərilmişdir [Иванищев, Курганов, 1992]. Müəyyən edilmişdir ki, ispanaq bitkisi yarpaqlarının mikrocisimciklərində MDH izoelektrik nöqtəsi 5,65, heyvan mənşəli orqanizmlərdə isə bu göstərici 5,0-6,0 həddlərində olur [Mottram, Graham, 1985].

Reaksiya mühitinin temperaturu da fermentativ reaksiyanın sürətinə təsir edən amillərdən biridir. Temperatur birbaşa diffuziya səthinə, dolaylı yolla isə zülal makromolekulunun strukturuna təsir göstərir. Bu təsir yalnız fermentlərin aktivliyinin dəyişməsinə deyil, həm də membran keçiriciliyinin

artmasına, homeostazın pozulmasına, lipidlər arasında qarşılıqlı təsirin dəyişməsinə və s. gətirib çıxarır. Zülalların denaturasiyası və membran strukturunun pozulması yüksək temperaturda hüceyrənin dağılmasının başlanğıcını təşkil edir. Temperaturun müəyyən həddə qədər artması fermentativ reaksiyaların sürətinin artmasına səbəb olur [Кузнецов, Дмитриева, 2005; Афанасьев, Березина, 2011].

Fermentlərin katalitik xassələrinin dəyişməsi orqanizmlərin dəyişən temperatur şəraitinə uyğunlaşma reaksiyalarından biri olub, ferment molekulunun modifikasiyası nəticəsində baş verir [Кузнецов, Дмитриева, 2005; Хелдт, 2011; Афанасьев, Березина, 2011]. Katalitik reaksiyanın gedişində fermentin konformasiya dəyişməsi zəif rabitələrin yaranması, yaxud qırılması (hidrogen, elektroststik, Van-Der-Vaals, hidrofob) hesabına baş verir. Bu zaman enerji ya udulur, ya da ayrılır [Кузнецов, Дмитриева, 2005; Хелдт, 2011].

Kataliz zamanı möhkəm strukturlu fermentin konformasiya dəyişkənliyi üçün az enerji tələb olunur. Möhkəm strukturlu fermentlərdə konformasiya dəyişikliyi mümkün deyil. Belə fermentlər stabil, uzunömürlü, amma inert olurlar. Yüksək temperatura uyğunlaşmış orqanizmlərdə fermentlərin öz quruluş tamlığını və funksional aktivliyini saxlamaq üçün daha çox möhkəm strukturu olmalıdır [Кузнецов, Дмитриева, 2005; Хелдт, 2011; Афанасьев, Березина, 2011].

Yüksək temperatura uyğunlaşma, həmçinin bir və ya bir neçə zəif rabitənin yaranması ilə də əlaqədardır. Əlavə rabitə fermentin termostabilliyini artırsa da, onun katalitik effektivliyini aşağı salır. Temperatura qarşı fermentlərin müxtəlif cür həssaslığı onların birincili quruluşunun modifikasiyası nəticəsində meydana gəlir [Кузнецов, Дмитриева, 2005; Хелдт, 2011].

Bitkilərin dəyişən temperatur şəraitinə uyğunlaşma reaksiyasının başqa tipi Mixaelis-Menten sabiti (K_m) ilə substratın qatılığı $[S]$ arasında olan nisbi dəyişməzlikdir. Müəyyən olunmuşdur ki, ayrılmış fermentlərdə temperaturun dəyişməsi K_m -in dəyişməsinə gətirib çıxarır. Bu, iki yolla – zülalın birinci quruluşunun dəyişməsi, yaxud da fermentin fəaliyyət göstərdiyi mühitin dəyişməsi hesabına baş verir. Zülalın birinci quruluşunun dəyişməsi fermentin yeni formalarının və uyğun olaraq, yeni əlamətlərin (adaptasiya) yaranmasına gətirib çıxarır. Fermentin yeni yaranan formaları temperatur stresi zamanı stres genlərin induksiyası nəticəsində də meydana çıxma bilər. Nəticədə fermentin yeni forması yaranır ki, bu da bitkiyə müxtəlif temperatur həddlərində yaşamağa imkan verir [Кузнецов, Дмитриева, 2005; Хелдт, 2011; Афанасьев, Березина, 2011].

QURAQLIĞIN AMARANT VƏ BUĞDA YARPAQLARINDA NAD-MDH FERMENTİNİN İZOFORMALARININ BƏZİ FİZİKİ-KİMYƏVİ VƏ KİNETİK XASSƏLƏRİNƏ TƏSİRİ

Amarant yarpaqlarında NAD-MDH, inkişaf mərhələlərindən asılı olaraq, molekul çəkisinə, subhüceyrə paylanmasına və R_f qiymətlərinə görə bir-birindən fərqlənən izoferment tərkibinə malikdir (şəkil 3.9, 3.10; cədvəl 4.2).

Amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləməni mərhələsindən başlayaraq torpaq quraqlığı yaradılmışdır. Bu mərhələnin əsas xüsusiyyəti ondan ibarətdir ki, yarpaqların MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında fermentin izoferment spektrində dəyişkənlik baş verməsə də quraqlıq nümunələrində MH və ÖTH-nin mNAD-MDH-nin R_f -i 0,33, molekul çəkisi 72 kDa olan izoformasını yox olmuşdur. Ontogenezin sonrakı mərhələlərində torpaq quraqlığının təsirindən yarpağın MH və ÖTH-nin bir çox xassələrinə görə fərqlənən izoforma dəyişkənliyi baş vermişdir (şəkil 3.9, 3.10; cədvəl 4.2). Amarant bitkisinin ontogenezinin sonuncu mərhələsində bəzi izoformaların itməsi nəticəsində MH və ÖTH-nin sitozolunda fermentin yalnız 58 kDa, quraqlıq nümunələrində isə 72 kDa molekul çəkili iki izoformasını qalmışdır.

Normal suvarılan bitki nümunələrinin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin izoferment spektrinin dəyişmə dinamikasına baxsaq görərik ki, MDH-nin izoferment spektri inkişafın mərhələlərindən asılı olaraq dəyişir. Məsələn, çiçəkləməni mərhələdə MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında kontrolda NAD-MDH-nin ümumilikdə 8, ÖTH-nin müvafiq fraksiyasında 6 izoformasını vardır. Bitkinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində bu göstəricilər, uyğun olaraq, 9 və 8-ə bərabərdir. Amarantın inkişafının toxumyeyişmə mərhələsində MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında kontrolda izoformaların sayı müvafiq olaraq 4 və 5-ə bərabər olmuş və vegetasiyanın sonunda azalaraq minimum həddə çatmışdır (cədvəl 4.2). Buna görə də bitkinin aktiv inkişaf mərhələlərində MDH izoformalarının sayının stres təsirindən artması və ya azalması, eləcə də subhüceyrə fraksiyaları üzrə yerdəyişməsi onun polifunksional və adaptasiyaedici ferment olduğunu söyləməyə zəmin yaradır.

Son illərin ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, *Arabidopsis* genomunda NAD-MDH-ni kodlaşdıran azı 8 gen vardır. Bunlardan ikisi peroksisom [pMDH; pMDH1 və pMDH2; Pracharoenwattana et al., 2007; Eubel et al., 2008], ikisi mitoxondri [mMDH; mMDH1 və mMDH2; Lee et al., 2008; Tomaz et al., 2010], biri isə plastid MDH izoformasındadır [pNAD-MDH; Berkemeyer et al., 1998]. Sonrakı üç izoformanın sMDH olduğu güman edilir (sMDH; sMDH1, sMDH2 və sMDH3). *Arabidopsis* genomu eyni zamanda plastid lokalizasiyılı MDH-nin NADF-dən asılı olan izoformasını da kodlaşdırır [Hebbelmann et al., 2012].

Quraqlıqda amarant yarpaqlarında NAD-MDH-nin izoferment tərkibi, izoformaların subhüceyrə paylanması və bəzi fiziki-kimyəvi parametrləri

Toxuma	Variant	Kontrol			Quraqlıq			Mr (kDa). R _f
		Konstitutiv	İtən	İnduktiv	Konstitutiv	İtən	İnduktiv	
Çiçəkləməözü								
MH	Sitozol	58, 63,68,77	-	-	-	-	-	58 (0,5)
	Xloroplast	63	-	-	-	-	-	63 (0,4)
	Mitoxondri	63, 68, 77	-	-	-	-	-	68 (0,36)
ÖTH	Sitozol	63,77	-	-	-	-	-	72 (0,33)
	Xloroplast	63	-	-	-	-	-	77 (0,28)
	Mitoxondri	63, 68,77	-	-	-	-	-	
Çiçəkləmə								
MH	Sitozol	58, 63,68,77	-	-	58,77	63,68	-	
	Xloroplast	63	-	-	-	-	-	-
	Mitoxondri	63, 68, 77	-	58	63,68	77	58	
ÖTH	Sitozol	63,77	-	58,77	63,72	-	58	-
	Xloroplast	63	-	-	-	-	-	-
	Mitoxondri	63, 68,77	-	58	63,68	77	58	
Toxumyetişmə								
MH	Sitozol	58	63,68,77	-	58	-	77,72	
	Xloroplast	63	-	-	-	-	-	-
	Mitoxondri	63, 68,77	58-İ	-	-	-	-	
ÖTH	Sitozol	58	-	-	58	-	68	-
	Xloroplast	63	-	-	-	-	-	-
	Mitoxondri	63, 68,77	58-İ	-	-	-	58,72	
Vegetasiyanın sonu								
MH	Sitozol	58	-	-	-	-	-	
	Xloroplast	-	-	-	-	-	-	-
	Mitoxondri	72	-	-	72	-	-	
ÖTH	Sitozol	58	-	-	72	-	-	-
	Xloroplast	-	-	-	-	-	-	-
	Mitoxondri	68, 77	-	-	72	-	-	

Mr-molekul çəkisi, K-kontrol, Q-quraqlıq

MDH izoformalarının fizioloji rolu onların subhüceyrə paylanması və metabolik yolların xüsusiyyətləri ilə əlaqədardır. Məsələn, mNAD-MDH tənəffüs və fototənəffüs proseslərində yaxından iştirak edir [Tomaz et al., 2010]. pNAD-MDH-si yağ turşularının β-oksidləşməsi zamanı pMDH OA-nı malata reduksiya etməklə, NAD⁺ elektron akseptorunu regenerasiya etmək

və onu sitozoldakı OA ilə mübadilə etmək [Pracharoenwattana et al., 2007], fototənəffüs zamanı sitozoldan çıxarılan malatı oksidləşdirməklə NADH əmələ gətirmək kimi iki funksiyanı həyata keçirir [Reumann, Weber, 2006; Cousins et al., 2008]. pNAD-MDH-yə malik olmayan *Arabidopsis* mutantlarında (pmdh1, pmdh2) yağ turşularının β -oksidləşmədə və cücərtinin əmələ gəlməsində ciddi ləngimə yaranır və mutantların inkişafında ekzogen şərtlərin miqdarından asılılıq nəzərə çarpır [Pracharoenwattana et al., 2007]. Nəzərə çarpan bu əlamətlər yağ turşularının β -oksidləşməsinə görə alınan mutant formaların fenotipinə xas olan əlamətdir [Pinfield-Wells et al., 2005; Baker et al., 2006; Pracharoenwattana et al., 2007].

Buğda yarpaqlarında NAD-MDH-nin fiziki-kimyəvi xassələrinin öyrənilməsi üçün aparılan təcrübələrin nəticələri cədvəl 4.3 və şəkil 3.11, 3.12-də əks olunmuşdur. Cədvəldən görüldüyü kimi, buğda genotiplərinin aktiv inkişaf mərhələlərində kontrol bitkilərdə sNAD-MDH-nin 58, 74 və 78 kDa, mNAD-MDH-nin 74 və 78 kDa, xNAD-MDH-nin isə 78 kDa molekul çəkili izoformaları fəaliyyət göstərir. Bitkilərdə vegetasiyanın boruyaçıxma mərhələsinin sonundan süni torpaq quraqlığının yaradılmasına başlanmışdır. Bitki inkişafının çiçəkləmə mərhələsində quraqlığın təsirindən buğdanın Bərəkətli-95 genotipinin yarpaqlarının MH-nin sitozol fraksiyasında 58 və 78 kDa molekul çəkili konstitutiv izoformalarla yanaşı, 82 kDa, mitoxondri fraksiyasında isə 66 kDa molekul çəkili induktiv izoformalar sintez olunmuş, 74 kDa molekul çəkili konstitutiv izoforma isə quraqlığın təsirindən yox olmuşdur. Çiçəkləmə mərhələsində müşahidə olunan bu mənzərə vegetasiyanın axırınadək davam etmişdir. Qaraqılçiq-2 genotipinin MH-nin sitozol fraksiyasında quraqlığın təsirindən Bərəkətli-95 genotipindən fərqli olaraq fermentin 82 kDa molekul çəkili izoformasına rast gəlinməmişdir.

Quraqlığadavamlı genotipdən fərqli olaraq, davamsız genotipdə stressin təsiri nəticəsində fermentin izoferment tərkibində ciddi dəyişkənlik baş verməsə də, mitoxondri fraksiyasında 66 kDa molekul çəkili yeni izoforma əmələ gəlmişdir. Vegetasiyanın sonuna yaxın Bərəkətli-95 genotipinin sitozol fraksiyasında lokalizasiya olunan 74 kDa molekul çəkili izoforma quraqlığın təsirindən yox olmuşdur.

Buğda genotiplərində NAD-MDH-nin aktivlik səviyyəsini, zülalların miqdarını, izoformaların sayını və molekul çəkilərini, kataliz etdikləri reaksiyanın kinetik parametrlərini müqayisə etsək, belə bir nəticə çıxara bilərik ki, Bərəkətli-95 genotipində tədqiq olunan fermentin izoformaları quraqlığın təsirindən Qaraqılçiq-2 genotipi ilə müqayisədə dah çox labillik göstərirlər.

Quraqlıq zamanı buğda yarpaqlarında NAD-MDH-nin izoferment tərkibi, izoformaların subhüeyrə paylanması və bəzi fiziki-kimyəvi parametrləri

Genotip	Subhüc. fraksiyaları	Kontrol			Quraqlıq			Mr (kDa), R _f
		Konstitutiv	İtən	İnduktiv	Konstitutiv	İtən	İnduktiv	
Boruyaçıxma								
B-95	Sitozol	58, 74, 78	-	-	-	-	-	58 (0,44)
	Xloroplast	78	-	-	-	-	-	66
	Mitoxondri	74, 78	-	-	-	-	-	(0,4)
Q-2	Sitozol	58, 74, 78	-	-	-	-	-	74 (0,32)
	Xloroplast	78	-	-	-	-	-	78 (0,28)
	Mitoxondri	74, 78	-	-	-	-	-	82 (0,22)
Çiçəkləmə								
B-95	Sitozol	58, 74, 78	-	-	58, 78	74	82	
	Xloroplast	78	-	-	78	-	-	-
	Mitoxondri	74, 78	-	-	74, 78	-	66	
Q-2	Sitozol	58, 74, 78	-	-	58, 74, 78	-	-	-
	Xloroplast	78	-	-	78	-	-	
	Mitoxondri	66, 74, 78	-	-	74, 78	-	66	
Dənyetişmə								
B-95	Sitozol	58, 78	74	-	58, 78	74	82	
	Xloroplast	78	-	-	83	-	-	-
	Mitoxondri	74, 78	-	-	74, 78	-	66	
Q-2	Sitozol	58, 78	74	-	58, 78	74	-	-
	Xloroplast	78	-	-	78	-	-	
	Mitoxondri	74, 78	-	-	74, 78	-	66	

Qeyd: Mr-molekul çəkisi, B-95 – Bərəkətli-95, Q-2 – Qaraqılçiq-2

Ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, NAD-MDH izoformalarının hər biri homodimer (33-36 kDa) olub, iki subvahiddən ibarətdir (Berkemeyer et al. 1998). Məsələn, Gietlin işlərində MDH-lərin heyvanlarda, bitkilərdə və əksər bakteriyalarda homodimer olub, subvahidlərin molekul çəkisinin 32-37 kDa arasında dəyişdiyi göstərilmişdir. Bitki mənşəli MDH-lər molekul quruluşuna, kofaktor spesifikliyinə, subhüeyrə paylanmasına və funksiyalarına görə fərqlənirlər [Gietl, 1992; Yu Ding, Qing-Hu Ma, 2004]. Musrati və b. isə müəyyən etmişlər ki, MDH multiferment olub, hər birinin molekul çəkisi 30-35 kDa olan 2, yaxud 4 identik subvahiddən ibarətdir [Musrati et al., 1998].

Minard və b. [Minard, McAlister-Henn, 1991] ilk dəfə olaraq, *S. cerevisiae*-nin asetatdan asılı olan fenotiplərində NAD-MDH-nin 3 izoformasının olduğunu müəyyən etmişlər. Belə ki, qeyri-mitoxondri izoformanın molekulyar çəkisi 42 kDa, mitoxondri izoformanın molekulyar çəkisi isə 33,5 kDa təşkil edir. Sonuncu izoformanın xloroplastlarda lokalizasiya olunduğu güman edilir.

MDH-nin kinetik və katalitik xassələrinin analizi göstərir ki, onun izoformaları bir-birindən pH, temperatur optimumları, katalitik effektivliyi, K_m qiyməti və başqa parametrlərinə görə fərqlənirlər.

Müxtəlif mənşəli MDH izofermentlərinin kataliz etdikləri düzünə və əksinə gedən reaksiyaların sürəti, xüsusi aktivliyi və katalitik effektivliyi arasında aşkar olunan fərq, göründüyü kimi, bu ferment sisteminin katalitik mexanizminin xüsusiyyətləri ilə əlaqədardır. Məlumdur ki, MDH-nin dönər reaksiyalarının gedişi öz kinetik parametrlərinə görə fərqlənən iki müxtəlif konformasiya vəziyyətində baş verə bilər [Блюмфельд, Плешанов, 1986]. Malatın oksidləşməsinin dəyişkən sürətlə getməsi, əlavə energetik bəyər və katalitik akt zamanı molekulyar strukturunda baş verən konformasiya dəyişməsi ilə bağlıdır. Bu zaman H^+ -ionlarının malatdan koenzimə ötürülməsi üçün MDH molekulyarı gərgin vəziyyətdən nisbətən zəifləmiş konformasiya vəziyyətinə keçməlidir. Oksalasetatın çevrilməsi isə fermentin katalitik akt zamanı konformasiya strukturunun dəyişməsi ilə əlaqədar deyildir.

Düzünə və əksinə gedən MDH reaksiyalarının sürəti arasındakı münasibət, izofermentlərinin mənşəyindən asılı olaraq dəyişir. Məlumdur ki, fermentin sitozol və qlioksimal izoformaları tərəfindən kataliz olunan malatın oksidləşmə sürəti OA-nın reduksiyası sürətinin ~70%, mitoxondri və plastidlərdə isə ~50%-ni təşkil edir. Bu nəticələr göstərir ki, MDH-nin yüksək təmizlənmiş izoformaları hüceyrədə MDH sistemi zülalların öz aralarında xarakteristikalarına, xassələrinə və müxtəlif genetik mənşəyinə görə fərqlənən iki funksional qrup əmələ gətirirlər.

MDH izoenzimlərinin dönər reaksiyasının katalitik effektivliyi arasındakı fərqi əsas fizioloji mənası, görünür, zülalların hüceyrədaxili mikroəhatəyə adaptasiyası ilə bağlıdır. Malatın oksidləşməsinin OA-nın reduksiyasına nisbəti yüksək olan MDH izofermentləri, əsasən, pH-ın aşağı qiymətlərinə malik hüceyrə kompartmentlərində – sitozol və qlioksisomlarda, əksinə, bu nisbət aşağı olan MDH izofermentləri yüksək pH-a malik hüceyrə kompartmentlərində – mitoxondri və etioplastlarda lokalizasiya olunmuşlar [Фридрих, 1986].

Sitozol və qlioksisomlarda lokalizasiya olunan MDH-nin dimer formaları daha çox, mitoxondri və xloroplast lokalizasiyalı MDH izoformaları orta, MDH-nin tetramer izoformaları isə zəif katalitik effektivliyə və xüsusi aktivliyə malikdirlər. MDH izofermentlərinin katalitik effektivliyində və xü-

susi aktivliyində olan fərqlər hər şeydən əvvəl, onun birincili strukturu və genetik təbiəti ilə əlaqədardır.

REAKSIYA MÜHİTİNİN pH-NIN NAD-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Bütün zülallar məhlulda H^+ -ionlarının qatılığının müəyyən həddlərində katalitik aktivlik göstərilir. Fermentlərin optimal katalitik aktivlik göstərməsi üçün lazım gələn optimal pH, adətən hüceyrədaxili strukturlarda H^+ -ionlarının qatılığına uyğun olur. MDH sistemi izofermentləri onların katalitik təsirinin optimal pH-nın qiymətlərinə görə öz aralarında fərqlənirlər. Bu təsirlər fermentin fəal mərkəzini əmələ gətirən aminturşu qalıqlarının funksional qruplarının ionlaşmasının tənzim səviyyəsi ilə əlaqədardır. Bu amillər fermentin funksional vəziyyətinə təsir etmək və onun aktivliyinin H^+ -ionlarının qatılığından asılılığını tənzimləmək imkanlarına malikdir.

Fermentlər pH-ın kiçik həddlərində daha aktiv olurlar. Bunlardan fərqli olaraq bizim tədqiq etdiyimiz amarant bitkisinin yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə orqanoidlərində normal suvarma və torpaq quraqlığı şəraitində MDH-nin izoformaları daha geniş pH optimumuna malik olurlar (pH-7,5; 8,8). MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın sürəti reaksiyanın başlanğıcında substratın qatılığında daha çox asılı olur (cədvəl 4.4).

Amarant yarpaqlarının MH-də mMDH izofermenti pH-ın 6-9 qiymətlərində yüksək aktivlik göstərir və bu intervalda pH-ın 8 qiyməti onun üçün optimum hesab olunur. Hər iki toxumanın xloroplast, ÖTH-nin isə mitoxondri fraksiyasında buna oxşar nəticələr alınmışdır.

Müəyyən olunmuşdur ki, amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-nin sNAD-MDH-si OA-nın reduksiyası reaksiyasını reaksiya mühitinin pH-nın 7,5-8,5, MH-nin xNAD-MDH-si normal və torpaq quraqlığının təsiri şəraitində pH-ın 7,7-8,2, ÖTH-nin xNAD-MDH-si kontrolda pH-7,7; 8,2, quraqlıqda pH-7,5; 8,7, MH və ÖTH-nin mNAD-MDH-si isə pH-ın, uyğun olaraq, 7,7-8,2, və 8,0-9,0 qiymətlərində reaksiyanı daha sürətlə kataliz edirlər (cədvəl 4.4). Amarant yarpaqlarının MH-də sNAD-MDH malatın OA-ya oksidləşməsi reaksiyasını reaksiya mühitinin pH-nın 9,2-9,7, ÖTH-də isə 9,0-9,5 qiymətlərində, xNAD-MDH-si kontrolda 8,5-9,0, quraqlıqda 8,2-8,7; MH və ÖTH-də mMDH-si isə bu reaksiyanı pH-ın 8,8-9,2 qiymətlərində optimal kataliz edir. Düzünə gedən reaksiya zamanı MH-nin sNAD-MDH-sinin optimal pH-ı 7,7-8,2, ÖTH-də sNAD-MDH pH-ın 7,7-8,5 qiymətlərində reaksiyanı daha optimal kataliz edir. MH və ÖTH-nin mNAD-MDH və xNAD-MDH-sinin aktivliyi pH-ın 7,7-8,2 qiymətlərində daha da dəyişir (cədvəl 4.4).

Alınan nəticələr göstərir ki, MDH qələvi mühitin 7,5-10 qiymətlərində geniş pH optimumuna malik olub, dönər reaksiyaların optimum pH-ları üst-üstə düşür. MDH OA reduksiyası reaksiyasını H^+ -ionlarının qatılığının aşağı qiymətlərində daha yüksək sürətlə kataliz edir.

mNAD-MDH və xNAD-MDH-nin optimum pH-nın qələviliyə doğru yerdəyişməsinin, görünür, tənzimləmə xassəsi vardır. Bu şəraitdə OA-nın reduksiyası reaksiyasının yüksək sürəti, pH-dan istənilən cüzi kənarlanma MDH-nin verilən substrata qarşı həssaslığa və aktivliyinin nəzərəcarpacaq dəyişməsinə gətirib çıxarır.

Malatın oksidləşməsinin optimum pH-ı pH-şkalasının qələvi mühitində olması, görünür, fizioloji pH-ı 8-ə yaxın olan mitoxondrilərdə və xloroplastlarda lokalizasiya olunan izofermentlər üçün tənzimləyici rolu vardır. Belə şəraitdə OA-nın reduksiya reaksiyası maksimal sürətlə gedir və pH-ın müvafiq qiymətində baş verən minimal kənarlaşma fermentin aktivliyində və substrat üçün K_m -in qiymətində nəzərəcarpacaq dəyişikliyə gətirib çıxarır. Digər tərəfdən malatın oksidləşməsi reaksiyası zamanı MDH aktivliyi pH-ın 7-dən aşağı qiymətlərində azalır və nəticədə ferment inhibirləşir. Buna görə mitoxondrilərdə aşağı pH-da (6,5) malatı oksidləşdirən alternativ yol mövcuddur. Bu yol malik enzimin iştirakı ilə fəaliyyət göstərir və cücrmənin ilk vaxtlarında bitki metabolizminin aktivləşməsində mühüm rol oynaya bilər. Nəhayət, dönər reaksiyalarda fermentin pH optimumunda olan fərqlər onunla izah oluna bilər ki, MDH substratların oksidləşməsini və reduksiyasını iki konformasiya vəziyyətində kataliz edir [Блюмфелд, Плешанов, 1986]

Buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında normal suvarılan və su srtesinə məruz qalmış bitkilərdə NAD-MDH oxşar pH asılılığına malikdir. Alınan nəticələr göstərir ki, fermentin kataliz etdiyi düzünə reaksiya hər iki genotipdə geniş pH optimumuna malikdir. Bu fraksiyaların hər birində MDH pH-ın 7,5-8,5 qiymət hüdudlarında optimal aktivlik göstərilir (cədvəl 4.4).

Optimal pH-da bütün fraksiyalarda aktivliyin səviyyəsini müqayisə etsək görərik ki, quraqlığa davamsız Qaraqılçiq-2 genotipinin stresə məruz qalmış yarpaqlarında sNAD-MDH-nin optimal pH-ı 8,0-8,5 olduğu halda, normal suvarılmış variantlarda bu göstərici 7,5-8,0-a bərabərdir. Bərəkətli-95 genotipinin normal suvarılan və quraqlığa məruz qalmış yarpaqlarının sitozol fraksiyasında pH-ın 7,7-8,2 hüdudunda NAD-MDH daha yüksək aktivlik əldə edir. Bərəkətli-95 genotipində normal suvarılan və quraqlığa məruz qalmış yarpaqların xloroplast fraksiyasında aktivlik mühitinin optimal pH-ı 8,0-8,5 hüdudlarında dəyişsə də, Qaraqılçiq-2 genotipində pH-ın 7,7-8,2 qiymətlərində ferment ən yüksək katalitik aktivlik göstərmişdir. Buğda genotiplərinin mitoxondri fraksiyalarında hər iki variantda pH-ın 7,7-8,2 qiy-

mətlərində NAD-MDH-nin daha yüksək aktivliyə malik olduğu qeydə alınmışdır. Buradan belə bir nəticəyə gəlmək olar ki, hər iki buğda genotipində NAD-MDH bütün fraksiyalarda geniş pH optimumuna malikdir.

Cədvəl 4.4-də buğda genotiplərində NAD-MDH-nin dönər reaksiyasının sürətinin reaksiya mühitinin pH-ından asılılığı göstərilmişdir. Malatın oksidləşməsi reaksiyası Bərəkətli-95 genotipinin yarpaq hüceyrələrinin sitozolunda mühitin pH-ı 8,8-9,5; xloroplast və mitoxondrilərində 8,5-9,2; Qaraqılçiq-2 genotipinin yarpaq hüceyrələrinin sitozolunda 9,0-9,7; xloroplast və mitoxondrilərində isə Bərəkətli-95 genotipində olduğu kimi, pH-ın 8,5-9,0 hüdudlarında dəyişmişdir.

Cədvəl 4.4

Amarant və buğda yarpaqlarında MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında reaksiya mühitinin pH-nın və temperaturunun NAD-MDH aktivliyinə təsiri

Növ	Toxuma	Variant	Fraksiya	pH		T, °C
				OA	Malat	
<i>Amaranthus cruentus</i> L.	MH	Kontrol	Sitozol	7,5-8,5	9,2-9,5	50
			Mitoxondri	7,7-8,2	8,8-9,2	-
			Xloroplast		8,2-8,8	-
		Quraqlıq	Sitozol	8,0	9,2-9,5	-
			Mitoxondri	7,7-8,0	8,8-9,2	-
			Xloroplast	7,7-8,2	8,2-8,8	-
	ÖTH	Kontrol	Sitozol	7,7-8,5	9,0-9,5	-
			Mitoxondri	8,2-8,7	8,8-9,2	-
			Xloroplast	7,7-8,2	8,5-9,0	-
		Quraqlıq	Sitozol	8,0-8,2	9,0-9,5	-
			Mitoxondri	8,2-8,5	8,8-9,2	-
			Xloroplast	7,8-8,2	8,5-9,0	-
Bərəkətli-95	Kontrol	Sitozol	7,7-8,2	8,8-9,5	-	
		Mitoxondri	7,8-8,2	9,0-9,5	-	
		Xloroplast	8,0-8,5	8,5-9,2	-	
	Quraqlıq	Sitozol	7,7-8,2	8,8-9,2	-	
		Mitoxondri	7,7-8,2	9,0-9,5	-	
		Xloroplast	8,0-8,5	8,5-9,2	-	
Qaraqılçiq-2	Kontrol	Sitozol	7,5-8,0	8,5-9,2	-	
		Mitoxondri	7,8-8,2		40	
		Xloroplast			-	
	Quraqlıq	Sitozol	7,5-8,0	8,5-9,2	50	
		Mitoxondri	7,8-8,2		40	
		Xloroplast			-	

Malatın oksidləşməsi reaksiyasının pH optimumunun qələviliyə doğru dəyişməsinə NAD-MDH-nin tənzimləyici funksiyası ilə əlaqələndirirlər. Bu fikirləri eynilə fizioloji pH-ı 8-ə yaxın olan mitoxondri və xloroplast fermentləri haqqında da söyləmək olar. pH-ın bu qiymətində malatın oksidləşməsi reaksiyası zamanı fermentin substratla doyması reaksiyanın maksimaldan zəif sürətlə getməsinə səbəb olur. pH-ın bu göstəricilərdən bir qədər kənarlaşması reaksiyanın sürətini yenidən maksimuma qədər artırma bilər. Hüceyrə daxilində pH-ın 7-dən aşağı qiymətlərində malatın oksidləşməsi reaksiyasının baş verməsi mümkündür.

Aparılan tədqiqat işləri nəticəsində müəyyən olunmuşdur ki, reaksiya mühitinin fermentin katalitik aktivliyinə təsiri, onun fəal mərkəzlərində lokalizasiya olunan turşu və əsasi qrupların (-COOH, -SH, histidinin imidazol azotu, -NH₂ və s.) ionlaşma dərəcəsinə təsiri ilə bağlıdır [Cornish-Bowden, 2012; Cook, Cleland, 2007]. Reaksiya mühitinin pH-nın dəyişən qiymətləri fəal mərkəzi qismən və ya bütövlükdə ionlaşdırma bildiyindən, fermentin aktivliyi bunlara müvafiq olaraq arta və azala bilər [Cornish-Bowden, 2012].

Ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, buğda yarpaqlarından ayrılmış NAD-MDH OA-nın malata reduksiyası reaksiyasını pH-ın zəif qələvi mühitində maksimum sürətlə kataliz edir [Banu et al., 1992].

REAKSIYA MÜHİTİNİN TEMPERATURUNUN NAD-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Fermentlərin vacib fiziki-kimyəvi xassələrindən biri də onların temperaturda həssaslığıdır. Temperatur ferment sistemlərinin aktivliyinin tənzimində, metabolizmdə, ferment molekulu ilə ferment-substrat kompleksi - [ES] arasında tarazlığın yaranmasında mühüm rol oynayır [Cook, Cleland, 2007; Cornish-Bowden, 2012]. Temperatur, həmçinin fermentin sabilliyinə, [ES] kompleksinin parçalanma sürətinə, fermentin substrata həssaslığına, fermentlə aktivator və inhibitorun yaxınlığına təsir göstərir [Cornish-Bowden, 2012].

Ferment sistemlərinin funksional vəziyyətinin saxlanması üçün təkamüldə temperaturdan qorunmaq üçün yollar əmələ gəlmişdir [Игамбердиев, 1990]. Bu yollardan biri fotosintezedici bitki toxumaları üçün xarakter olan fototənəffüsdür. Bundan başqa, xarici mühitin temperaturunun orqanizmə təsirini kompensasiya edən iki mexanizm mövcuddur. Bunlardan birincisi, hüceyrənin ferment sisteminin və izoferment tərkibinin temperaturdan asılı olaraq dəyişməsidir. İkinci yol isə cücərmə şəraitindən asılı olaraq fermentlərin katalitik effektivliyinin dəyişməsidir. Məsələn, 70°C-dən

yuxarı temperaturda zülalların tam olaraq inhibirləşməsi onun denaturasiyası ilə əlaqədar ola bilər [Игамбердиеви др., 1995].

sMDH OA reduksiyası reaksiyasını mühitin temperaturundan asılı olaraq, iki müxtəlif konformasiya vəziyyətində kataliz edir. Bu konformasiya vəziyyətləri xüsusi [ES] kompleksləri ilə bağlı olub, keçid vəziyyətin parametrlərinə görə fərqlənirlər.

Biz, amarant və buğda genotiplərinin ontogenezinin çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların subhüceyrə fraksiyalarından qismən təmizlənmiş ferment preparatlarında MDH aktivliyinin dəyişmə dinamikasına təsirini reaksiya mühitinin temperaturunun 10-70°C intervalında ferment preparatını 5 dəq inkubasiya etməklə tədqiq etmişik. Kontrol nümunələr 20°C-də 5 dəq müddətində inkubasiya olunmuşdur.

Temperaturun malatın oksidləşmə sürətinə təsiri, pH-8-də 0-70°C həddlərində tədqiq olunmuşdur (cədvəl 4.4). Müəyyən olunmuşdur ki, MH və ÖTH, sNAD-MDH və mNAD-MDH aktivliyi 45-55°C temperaturda torpaq quraqlığının təsirindən normal suvarılan bitkilərlə müqayisədə ~2,5 dəfə artmışdır ki, bunu quraqlığın təsirindən fermentin zülalının miqdarının artması ilə əlaqələndirmək olar. Bəcərilmə şəraitindən asılı olmayaraq, bütün fraksiyalarda temperaturun getdikcə 45-55°C-dək yüksəlməsi, NAD-MDH aktivliyinin də tədricən artmasına səbəb olmuşdur. Temperaturun 50-60°C-yə qədər yüksəlməsi zamanı ferment öz aktivliyinin, uyğun olaraq 13,4 və 29%-ni itirir. Beləliklə, mMDH malatın oksidləşməsi zamanı termokimyəvi sabillik göstərir və onun qrafiki 0-40°C temperatur həddində Arrenius üsulluna görə düz xəttlə xarakterizə olunur. mMDH bu reaksiyanı, uyğun olaraq bir konformasiya vəziyyətində kataliz edir. Malatın oksidləşməsi reaksiyasının temperatur sabiti 1,9-a bərabərdir.

Müəyyən olunmuşdur ki, mMDH-nin OA-ın reduksiya reaksiyası, malatın oksidləşmə reaksiyasından fərqli olaraq, daha yüksək temperaturda (50°C) yüksək sürətlə kataliz edir. Temperaturun 60°C-dək yüksəlməsi OA-nın reduksiya reaksiyası zamanı fermentin maksimal aktivliyinin 60% itirilməsinə, 70°C-dək yüksəlməsi isə aktivliyinin tamamilə itməsinə səbəb olur. Beləliklə, amarant yarpaqları mMDH sMDH kimi iki katalitik aktiv konformasiya vəziyyətində ola bilər. Onlardan biri zülalın zəif katalitik aktivlik göstərdiyi 0-25°C, ikincisi isə 25-55°C temperaturda yüksək aktivlik göstərən konformasiya vəziyyətidir (cədvəl 4.4-ə yalnız optimal temperatur qiymətləri daxil edilmişdir).

Mitoxondri daxilində temperatur fizioloji keçidin yüksək həddinə çatdıqda sistemi tarazılıqdan çıxara bilər və malatın oksidləşməsini inhibirləşdirməklə, reaksiyanı OA-nın reduksiyası tərəfə yönəltmək olar. Belə vəziyyətdə Krebs dövranı bağlanır, ATF sintezi dayanır və izafi enerjinin yayılması baş verir.

Kimyəvi kinetikaya uyğun olaraq, fermentlərin temperaturla denaturasiyası zamanı effektiv qatılığı azaldığından reaksiyanın sürəti də aşağı düşür. Temperaturun 45-55°C-dən aşağı qiymətlərində reaksiyanın sürəti kimyəvi kinetikaya uyğun olaraq artır. 55°C-dən yuxarı temperaturda isə fermentin denaturasiyası ilə əlaqədar olaraq, aktivliyi tamamilə itir. Optimumdan aşağı temperaturda fermentin aşağı aktivlik göstərməsi, aktivləşmə enerjisinin aşağı olması nəticəsində baş verdiyi müəyyən olunmuşdur.

Buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının bütün subhüceyrə fraksiyalarında fermentin aktivliyi tədricən artaraq 40-50°C-də maksimuma çatmış və 60-70°C temperaturda bütün subhüceyrə fraksiyalarında kəskin azalması baş vermişdir ki, bunu da amarantda olduğu kimi yüksək temperaturda zülalının denaturasiyası ilə izah etmək olar.

NAD-MDH üçün K_m , hər iki genotipdə temperaturun pozitiv funksiyası kimi artır. K_m -in temperaturdan asılılığının ümumi xarakteri ektotermik heyvanlardakı Krebs dövrünün fermentləri və bitkilərin bəzi fermentləri [Davidson, Simon, 1981] üçün oxşar olmuşdur və alınan nəticələr pozitiv termal modulyasiya kimi təsvir edilmişdir.

Ontogenezin ilkin mərhələlərində cücərtinin enerjiden istifadə imkanlarının zəif olması bu genotiplərdə MDH-nin daha yüksək qatılıqlarına və kinetik effektivliyinə tələbat meydana çıxarır. Krebs dövrünün əsas fermentləri olan mNAD-MDH üçün termostabilliyin artması reproduktiv mərhələdə aktiv metabolik sürətin saxlanmasına olan tələbatı əks etdirə bilər. Güman edilir ki, yaz fəslinin sonunda isti iqlimin selektiv təsirləri fermentin katalitik effektivliyini qorumaqla MDH-nin yüksək temperatura davam gətirməsi üçün temperatura həssaslığını modifikasiya edir [Potvin et al., 1983].

Nəhayət, alınan nəticələrin təhlili göstərir ki, buğda yarpaqlarının NAD-MDH-si üçün aldığımız optimal temperatur intervalı (45-55°C), amarant yarpaqlarının assimilyasiyaedici toxumalarında lokalizasiya olunan NAD-MDH üçün alınan maksimal temperatur həddinə (50-55°C) yaxındır.

Ədəbiyyat məlumatlarında müxtəlif mənbələrdən alınmış MDH-lərin optimal temperatur göstəriciləri 30-60°C həddlərində dəyişdiyi göstərilir [Пине́йру и др., 1991]. Quraqlığın təsirindən temperatura davamlılığın artmasını fermentin temperatura davamlı yeni izoformalarının induksiya olunması ilə izah etmək olar. Alınan nəticələr hər iki bitkidə becərilmə şəraitindən asılı olmayaraq, NAD-MDH-nin yüksək termostabilliyə malik olduğunu göstərir. Temperaturun müxtəlif fermentlərin katalitik mexanizminə təsirinin tədqiqi göstərir ki, bu amillərlə zülalların katalitik effektivliyi arasında müəyyən koordinasiya vardır.

REAKSIYA SÜRƏTİNİN SUBSTRATIN QATILIĞINDAN ASILILIĞI

Məlumdur ki, biokimyəvi reaksiyaların sürəti onu kataliz edən fermentlərin substratlarının qatılığından asılıdır [Cornish-Bowden, 2012]. Fermentativ reaksiyanın kinetikasını müzakirə etmək üçün onun bəzi kinetik parametrlərini bilmək və hesablamaq lazımdır. Belə parametrlərə reaksiyanın maksimum sürəti – V_{max} , Mixaelis-Menten sabitinin – K_m təyin olunmasını göstərmək olar. K_m – Mixaelis-Menten sabiti fermentlərin vacib kinetik parametrlərindən biri olub, fermentlə substratın yaxınlığını, [ES] kompleksinin əmələ gəlməsini və reaksiyanın son məhsullarına parçalanmasını xarakterizə edir. K_m -in qiyməti artdıqca, [ES] kompleksinin reaksiyanın məhsullarına parçalanması asanlaşır və reaksiya zəif sürətlə gedir. K_m -in kiçik qiymətlərində isə əksinə, reaksiya böyük sürətlə kataliz olunur. Monomolekulyar reaksiyalarda bir çox fermentlər üçün K_m -in aldığı qiymət $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-3}$ mol/l aralığında olur. K_m və V_{max} verilən ferment üçün standart şəraitdə (pH, t° və s.) sabit qiymətə malikdir. Nisbi spesifiklik göstərən fermentlərin hər birinin özünəməxsus K_m -i vardır.

K_m -i qrafik olaraq substratın müxtəlif qatılıqlarında V -ni ölçməklə təyin edirlər. $V=1/2 - V_{max}$ olanda, $K_m=[S]$ olur. Yəni reaksiyanın sürəti maksimal sürətin yarısına uyğun gələn substratın qatılığı K_m -ə bərabərdir.

Amarant bitkisinin yarpaqlarının subhüceyrə fraksiyalarında fermentin lokalizasiya olunan izoformalarının kinetik xassələrini öyrənərkən müəyyən olunmuşdur ki, adi fizioloji şəraitdə OA-nın qatılığı 1,0 mM olduqda NAD-MDH fermentinin normal suvarılan bitkilərdə quraqlığa məruz qalmış bitkilərlə müqayisədə təqribən 20% yüksək olur.

Qeyd etdiyimiz kimi amarant yarpaqlarının hər iki fotosintez toxumalarında hər iki variantda MH-nin sitozol və mitoxondri, ÖTH-nin isə sNAD-MDH-si reaksiyanın kinetik parametrləri kimyəvi kinetikaya uyğun olaraq dəyişir. Belə ki, göstərilən hər üç fraksiyada və hər iki variantda quraqlığın təsirdən K_m azalmış, buna müvafiq olaraq V_{max} dəfələrlə artmışdır. Ən yüksək göstərici OA-nın reduksiyası reaksiyası zamanı (5 dəfə) MH-nin mitoxondri-lərində və malatın oksidləşməsi reaksiyasında MH-nin sitozolunda (4 dəfə) müşahidə olunmuşdur. Bütün bunlar reaksiyanın daha optimal və az substrat sərfi ilə əlaqədar olaraq katalitik sürətin yüksək olduğunu göstərir.

Fermentin kinetik xassələrini analiz edərkən, reaksiyanın kinetik xassələrinin Laynuiver-Berk qrafikinə nəzərən izah edilməsi daha düzgün nəticələr verə bilər, ona görə ki, bu üsulda kinetik parametrlər daha asan, sadə və yüksək dəqiqliklə göstərilir [Cook, Cleland, 2007; Cornish-Bowden, 2012]. Şəkillərdən görüldüyü kimi amarant yarpaqlarının subhüceyrə frak-

siyalarında malat 20-40 mM qatılığında fermentə inhibirləşdirici təsir göstərir (cədvəl 4.5).

Alınan nəticələrin analizi göstərir ki, amarant yarpaqlarında NAD-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın OA-ya görə K_m buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarındakı həmin göstəricilərdən aşağı qiymətə malik olub, 1,2-2,1 mM aralığında yerləşir. Amarant yarpaqlarının ÖTH-də baş verən həmin reaksiyanın V_{max-1} isə buğdanın flaq yarpaqlarının MH-nin subhüceyrə fraksiyaları ilə müqayisədə 3-5 dəfə yüksəkdir. Amarantın ÖTH-də V_{max} (OA) MH-dəki V_{max} (OA)-dan həmişə yüksək olmuş, bu fərq quraqlığın təsirindən kontrolla müqayisədə daha da artmışdır. Amarantın MH-nin subhüceyrə fraksiyaları arasında sitozolda V_{max} (OA) mitoxondri izoformasına nisbətən təqribən 2 dəfə, amarant yarpaqlarında MH ilə ÖTH-nin sNAD-MDH-də kontrol və quraqlıq variantlarda OA-ya görə K_m və V_{max} təqribən bir-birlərinə bərabər olsalar da, ÖTH-nin mitoxondri fraksiyasında V_{max} (OA) MH-nin mitoxondri fraksiyasına nisbətən ~3-4 dəfə yüksək olmuşdur (şəkil 4.1.).

Alınan nəticələr MDH-nin OA-ya qarşı yüksək, malata qarşı isə aşağı həssaslığa malik olduğunu göstərir. Ədəbiyyat məlumatlarına əsasən, fermentin malata qarşı aşağı həssaslığa malik olması malatın katalitik çevrilməsi zamanı onun konformasiya dəyişkənliyi ilə əlaqədardır [Сатар и др., 2010].

NAD-MDH-nin izoformaları aktivliyinə, kataliz etdikləri reaksiyanın sürətinə, dönər reaksiyaların katalitik effektivliyinə görə bir-birindən fərqlənirlər. Dönər reaksiyalarda ferment kinetik parametrlərinə görə fərqlənən iki fərqli konformasiya vəziyyətində olur [Блюменфельд, Плешанов, 1986]. Malatın oksidləşməsi əlavə energetik baryerin aradan qaldırılması və kataliz zamanı molekulların strukturunda əhəmiyyətli konformasiya dəyişikliklərinin baş verməsi ilə müşayiət olunduğuna görə reaksiya sabit sürətlə baş vermir. Malat həyəcanlanmış səviyyədə əvvəlki vəziyyətinə qayıdarkən ayrılan protonları kofermentə verərək, substratla MDH-nin görüşməsinə şərait yaradır. Reaksiyanın son məhsulu alındıqdan və ferment molekulu ilkin konformasiya vəziyyətinə qayıtdıqdan sonra substrat molekulunun növbəti çevrilməsi baş verə bilər.

Fridrix [Фридрих, 1986] göstərir ki, OA-nın reduksiyası reaksiyası fermentin quruluşunda baş verən konformasiya dəyişiklikləri ilə əlaqədar olmayıb, onların hüceyrə daxilində yerinə yetirdiyi fizioloji-biokimyəvi funksiya ilə bağlı ola bilər. Sitozol və qlisoksisomlarda malatın oksidləşmə reaksiyasının sürəti OA-nın reduksiyası reaksiyasına nisbətən daha sürətli olması, həmin kompartmentlərdə pH-ın aşağı, mitoxondri və etioplastlarda OA-nın malata çevrilməsi reaksiyasının daha sürətli getməsi isə həmin kompartmentlərdə pH-ın yüksək olması ilə izah edilir. qNAD-MDH və

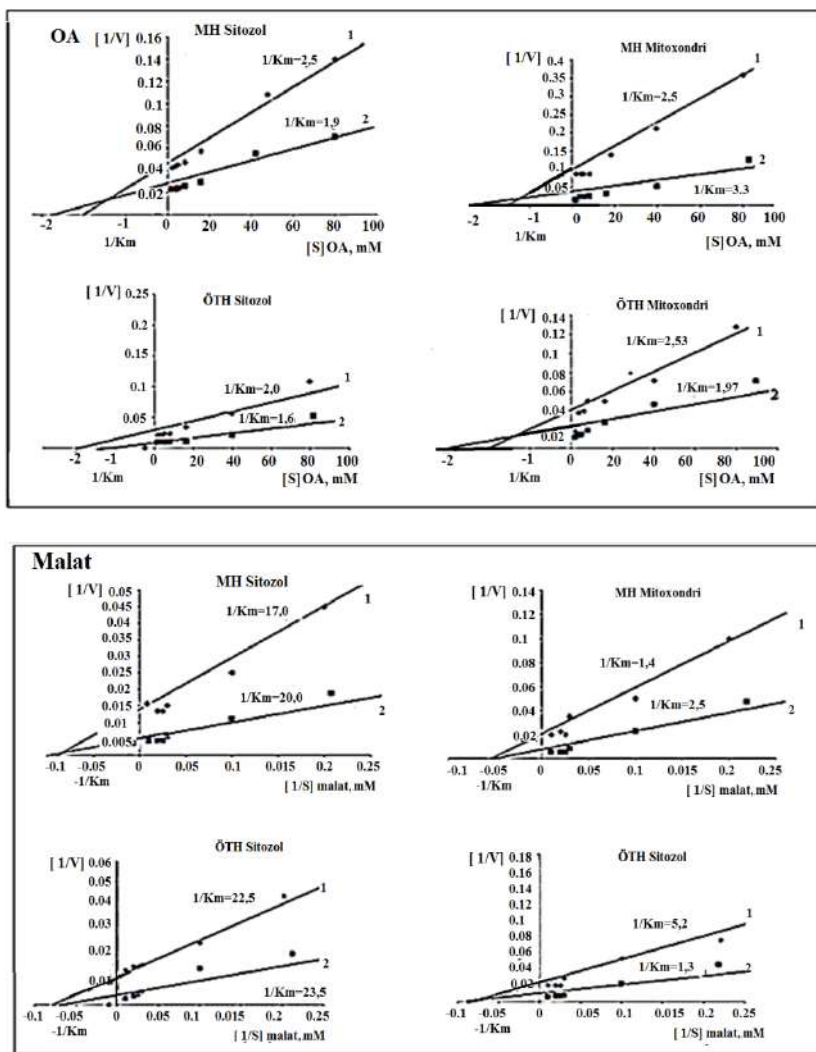
sNAD-MDH-lərin dimer formaları yüksək, mNAD-MDH və xNAD-MDH-nin tetramer formaları isə aşağı katalitik effektivliyə malikdir.

Cədvəl 4.5

Quraqlıq zamanı amarant və buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyalarının bəzi kinetik parametrləri

Toxuma Fraksiya	Variant	OA (0,1-10 mM)		Malat (1-50 mM)		MgCl ₂ (1-50 Mm)		ATF (0,1-3 mM)		NADH (0,1-3 mM)		
		K _m	V _{max}	K _m	V _{max}	K _m	V _{max}	K _i	V _{max}	K _m	V _{max}	
Amarant - Çiçəkləmə												
MH	Sit	K	0,7	23,6	0,06	71,4	3,9	47,6	1,5	100	8,0	50,0
		Q	0,53	43,4	0,05	333	3,9	100	2,1	20,0	7,81	83,3
	Mit	K	0,4	10,0	0,72	50,0	2,8	192	1,3	125	8,47	55,6
		Q	0,3	50,0	0,4	111	4,0	240,0	1,2	100	10,0	166,7
ÖTH	Sit	K	0,5	40,0	0,05	100	4,6	45,5	1,0	83,3	7,52	55,6
		Q	0,63	100,0	0,04	250	5,0	100	2,3	33,3	7,4	125
	Mit	K	0,65	25,0	0,19	50	4,9	10,0	1,2	100,0	9,0	90,9
		Q	0,51	50,0	0,23	100	6,0	25,0	1,03	66,7	8,0	200
Buğda - Çiçəkləmə												
B-95	Sit	K	0,85	5,0	0,06	5,0	5,4	25,0	0,80	10,0	6,5	8,3
		Q	0,5	10,0	0,06	3,33	6,3	16,7	0,75	5,0	6,7	12,5
	Mit	K	0,63	5,0	0,08	2,86	5,0	20,0	0,71	47,6	4,5	8,2
		Q	0,76	25,0	0,05	4,76	3,6	100,0	0,63	35,7	5,0	16,7
Q-2	Sit	K	1,11	5,0	0,13	3,33	7,7	12,5	0,9	5,88	7,5	8,3
		Q	0,91	10,0	0,2	5,0	8,3	25,0	0,8	5,0	7,8	10,0
	Mit	K	0,48	3,33	0,15	5,0	4,0	166,7	0,62	33,3	6,3	7,7
		Q	0,63	4,41	0,17	10,0	4,4	142,9	0,74	25,0	6,1	10,0

Qeyd: Sit-sitozol, Mit-mitoxondri. B-95-Bərəkətli-95, Q-2-Qaraqılçiq-2, K-kontrol, Q-quraqlıq, V_{max}-EU/mq zülal

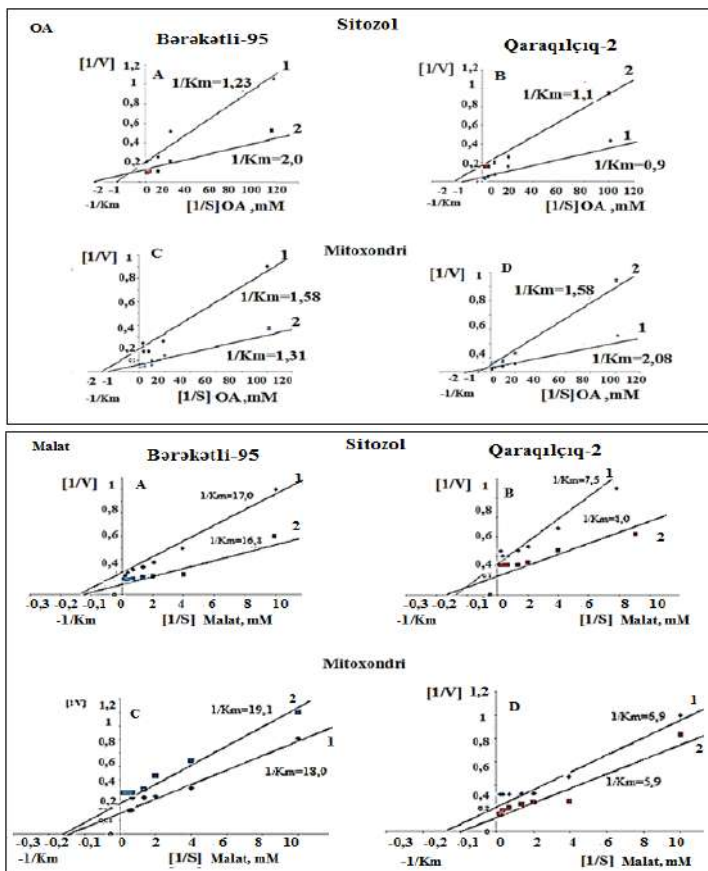


Şəkil 4.1. Quraqlıq şəraitində amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin kataliz etdiyi OA-nın reduksiya və malatın oksidləşməsi reaksiyalarının sürətinin substratın qatılığından asılı olaraq dəyişməsinin kinetikası. 1-kontrol, 2-quraqlıq. A-MH, sitozol, B-MH, mitoxondri, C-ÖTH, sitozol, D-ÖTH, mitoxondri

Alınan nəticələrin təhlili göstərir ki, amarant yarpaqları NAD-MDH-sinin izoferment tərkibində MH və ÖTH-nin tipindən, hüceyrədaxili kompartimentləşmədən, torpaq quraqlığının təsirindən sNAD-MDH və mNAD-MDH-lər daha çox dəyişirlər. Torpaq quraqlığının təsirindən MH-də sNAD-MDH və mNAD-MDH-lərin mövcud izoformalarının bəzilərinin ontogene-

zin çiçəkləmə və toxumyetişmə mərhələlərində yox olması və induktiv izoformaların yaranması ilə oxşar hadisələrin ÖTH-nin sitozol və mitoxondri fraksiyalarında meydana çıxmasını, fotosintez və CO₂ mübadiləsini stresin təsirindən qorumağa və onlarda quraqlığa qarşı adaptasiya əlamətlərinin yaranmasının tərkib hissəsi kimi qiymətləndirmək olar.

Quraqlığadavamlılığına görə fərqlənən buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH-də NAD-MDH reaksiyasının V_{max} və K_m-nin qiymətlərində torpaq quraqlığının təsirindən adaptiv dəyişikliklər baş verir (cədvəl 4.5). Cədvəldən görüldüyü kimi optimal temperaturda buğda genotiplərində quraqlığın təsirindən NAD-MDH reaksiyasının K_m-i kontrol nümunələrlə müqayisədə azalmış, bundan fərqli olaraq V_{max} isə artmışdır (şəkil 4.2, Cədvəl 4.5).



Şəkil 4.2. Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarının MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin kataliz etdiyi OA-nın reduksiyası və malatın oksidləşməsi reaksiyalarının substratın qatılığından asılılığının kinetikası (Laynuiver-Berkə görə). 1-kontrol, 2-quraqlıq

Cədvəl və şəkildən görüldüyü kimi buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında MDH reaksiyası zamanı $K_m(OA)$ və $V_{max}(OA)$ tədqiqat nümunələrindən, genotiplərdən və subhüceyrə lokalizasiyasından asılı olaraq, bir-birindən fərqlənirlər. Alınan nəticələr göstərir ki, torpaq quraqlığı şəraitində Bərəkətli-95 genotipinin sitozolunda $V_{max}(OA)$ kontrol nümunələri ilə müqayisədə ~2 dəfə, mitoxondrilərdə isə bu artım ~5 dəfəyə bərabər olmuşdur.

Qaraqılçiq-2 genotipinin kontrol və quraqlıq nümunələrində sMDH-nin $V_{max}(OA)$ -nın qiyməti ~2, mitoxondri fraksiyalarında isə ~5 qiymət almışdır. Alınan nəticələrdən görürük ki, Qaraqılçiq-2 genotipində MDH-nin K_m və V_{max} qiymətləri antaqonizm təşkil edərək, reaksiyanın sürət sabitinin azalması nəticəsində maksimal sürət həddi daha da artır. Quraqlıq variantlarda alınan nəticələr göstərir ki, V_{max} kontrol nümunələrindən həmişə yüksək olmuşdur.

Reaksiyanın ikinci substratı olan L-malat OA-ya nisbətən aşağı qatılıqlarda reaksiyaya daxil olur. Cədvəl 4.5-dən görüldüyü kimi Qaraqılçiq-2 genotipində reaksiya üçün tələb olunan L-malat Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə 2-4 dəfə çoxdur ki, bu da MDH reaksiyasının Bərəkətli-95 genotipində daha sürətlə getdiyini göstərir.

Malat və OA-nın bir hissəsinin su stresinə cavab olaraq orqanizm tərəfindən osmolit kimi istifadə olunması, onların torpaq quraqlığına qarşı adaptasiyanın yaranmasında mühüm rolunun olduğunu göstərir.

QURAQLIĞIN BUĞDA YARPAQLARINDA NADF-MDH FERMENTİNİN İZOFORMALARININ BƏZİ FİZİKİ-KİMYƏVİ VƏ KİNETİK XASSƏLƏRİNƏ TƏSİRİ

Məlumdur ki, fermentlərin fizioloji və biokimyəvi funksiyaları onların fiziki-kimyəvi xassələri ilə sıx bağlıdır. Bu nöqtəyi nəzərdən, buğda yarpaqları NADF-MDH-sinin müxtəlif izoformalarının fiziki-kimyəvi xassələrinin öyrənilməsi enzimologiya və bitkilərin stressə adaptasiya mexanizmlərinin öyrənilməsində böyük maraq kəsb edir. Bu məqsədlə buğda yarpaqlarından yüksək təmizlənmiş NADF-MDH-nin ferment preparatı alınmış və fiziki-kimyəvi xassələri tədqiq olunmuşdur (cədvəl 4.6).

Cədvəldən görüldüyü kimi, öyrənilən buğda genotipləri yarpaqların MH sitozol və xloroplastlarında lokalizasiya olunan NADF-MDH fermentinin izoferment spektrinə, izoformaların sayına, molekul çəkisinə və subhüceyrə lokalizasiyasına görə oxşar göstəricilərə malikdirlər. Hər iki genotipdə (Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2) MH-nin sitozol fraksiyasında fermentin 74 kDa molekul çəkiyə malik bir izoformasına vardır və bitkinin nə inkişaf mərhələlərindən, nə də torpaq quraqlığının təsirindən bu fraksiyada izoforma dəyişkənliyi baş verməmişdir.

Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarında NADF-MDH fermentinin bəzi fiziki-kimyəvi parametrləri

Genotip Variant	Subhüceyrə fraksiyaları	N-izof	Mr, kDa	N-sub vahid	Mr-subvahid, kDa	
B-95	K	Sitoplazma	1	74	2	37
		Xloroplast	2	74, 86	2	37, 43
	Q	Sitoplazma	1	74	2	37
		Xloroplast	2+1	74, 86, +90	2	37, 43, +45
Q-2	K	Sitoplazma	1	74	2	37
		Xloroplast	2	74, 86	2	37, 43
	Q	Sitoplazma	1	74	2	37
		Xloroplast	2+1	74, 86, +90	2	37, 43, +45

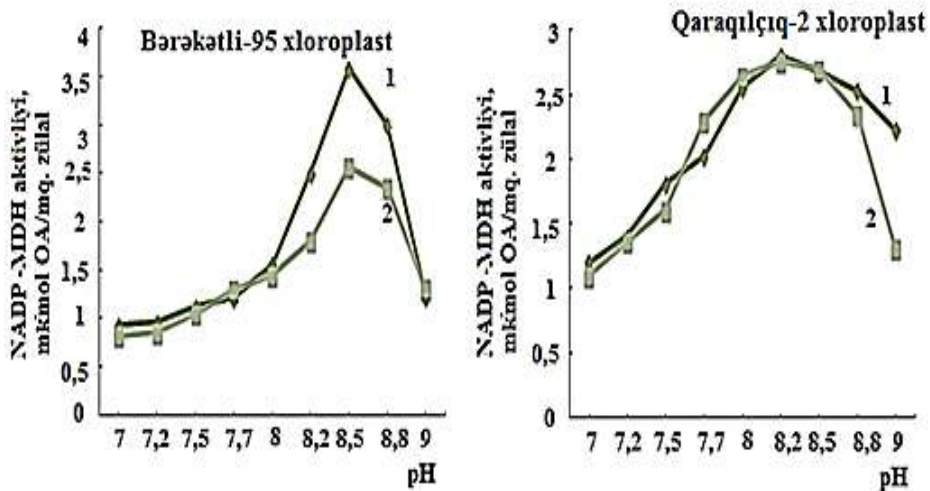
Qeyd: (+90)-induktiv izoformanın molekul çəkisidir, (+45)-induktiv izoforma subvahidinin molekul çəkisidir, N-izoformaların sayını, Mr-molekul çəkisini, K-kontrol, Q-quraqlıq variantlarını göstərir.

Bu toxumanın sitozol fraksiyasından fərqli olaraq xloroplast fraksiyasında fermentin 74 və 86 kDa molekul çəkili iki konstitutiv izoformaları və quraqlığın təsirindən əmələ gələn 90 kDa molekul çəkili induktiv izoforma öz aktivliklərini tədricən itirərək, vegetasiyanın sonunadək öz funksiyalarını yerinə yetirirlər.

REAKSIYA MÜHİTİNİN pH-NİN NADF-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Adətən fermentativ reaksiyaların sürətinin pH-dan asılılıq qrafiki parabolik əyri ilə xarakterizə olunur. pH optimumdan kənarlaşdıqca reaksiyanın sürəti aşağı düşür. Bundan başqa, pH fermentin strukturunu destabilləşdirmək, apofermentin qeyri-zülali komponentlə daimi əlaqəsini pozmaq yolu ilə də fermentlərin katalitik aktivliyinə təsir göstərə bilər. Fermentlər, adətən pH-ın kiçik zonasında daha çox aktivlik göstərilir. pH-ın dəyişməsi, eyni zamanda fermentlə aktivator və inhibitorlarının qarşılıqlı əlaqəsinə də təsir göstərə bilər. Fermentativ reaksiyanın optimum pH-ı hüceyrədaxili pH-a uyğun gəlməyə də bilər. Buna görə də pH-ı hüceyrə daxilində fermentativ aktivliyin tənzim olunmasına məsul olan amillərdən biri hesab etmək olar.

Müasir təsəvvürlərə görə reaksiya mühitinin pH-nın dəyişməsinin ferment molekuluna təsiri, molekulda olan turşu və əsas qruplarının fermentin fəal mərkəzində tutduğu mövqeyinə və onların ionlaşma dərəcələrinə təsiri ilə əlaqədardır. Reaksiya mühitinin pH-nın müxtəlif qiymətlərində aktiv mərkəzin hissəvi olaraq ionlaşmış və ionlaşmamış vəziyyətə keçə bilməsi ilə əlaqədar olaraq fermentin aktivliyi də arta və ya azala bilər. Bununla əlaqədar quraqlığa davamlılığına görə fərqlənən payızlıq bərk buğda genotiplərində (Bərəkətli-95, Qaraqılçiq-2) reaksiya mühitinin turşuluq göstəricisi olan pH-ın 6-9 oblastında NADF-MDH fermentinin aktivliyinin dəyişmə dinamikasını öyrənərkən müəyyən olunmuşdur ki, reaksiya mühitinin pH-nın aşağı qiymətlərində (6-7,5) substrat (OA) və aktivatorun (Mg^{2+}) normal qatılıqlarında [ES] kompleksinin əmələ gəlməsi və reaksiyanın məhsullarına parçalanması çətinləşir. Bundan fərqli olaraq, pH-ın 7,7-8,8 intervalında [ES] kompleksinin əmələ gəlməsi və reaksiyanın məhsullarına parçalanması asanlaşdığından reaksiyanın sürəti bir neçə dəfə artır ki, bu da aktivatorların və pH-ın təsiri ilə ferment molekulunun funksional qruplarının əlverişli fəza strukturu yaratması hesabına baş verdiyini deməyə imkan verir (şəkil 4.3).



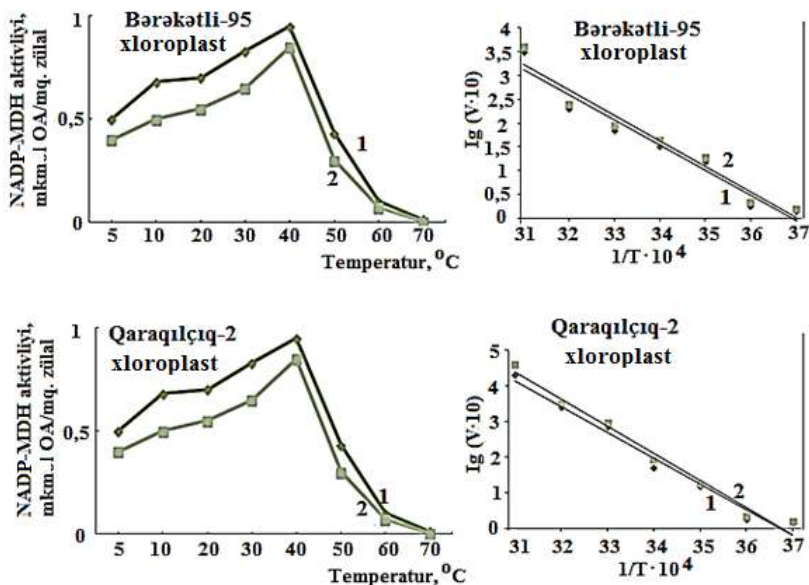
Şəkil 4.3. Reaksiya mühitinin pH-nın buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH-də xNADF-MDH aktivliyinə təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq

Alınan nəticələrə əsasən, belə mülahizə yürütmək olar ki, su stresinə məruz qalan bitkilərin mühitin ekstremal şəraitinə adaptasiyası, digər mexanizmlərlə yanaşı, həm də MDH-sistemi fermentlərinin yeni izoformalarının əmələ gəlməsi ilə əlaqədardır.

REAKSIYA MÜHİTİNİN TEMPERATURUNUN NADF-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Məlum olduğu kimi fermentin əsas xassələrindən biri də onların temperatura həssaslığıdır. Fermentlərin temperatura həssaslığı fərqli olub, optimal pH-ı 40-60°C həddlərində dəyişir. Fermentlərin termolabiliyyətinə substratların qatılığı, mühitin pH-ı ilə yanaşı, başqa amillər də təsir göstərir. Fermentlər kristal şəklində daha çox termostabil olurlar.

Şəkil 4.4-dən görüldüyü kimi Bərəkətli-95 və Qaraqılçıq-2 buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH xNADF-MDH reaksiyasının kinetik parametrləri su stresinin təsirindən sinxron olaraq dəyişir. Müəyyən olunmuşdur ki, NADF-MDH reaksiyasının sürəti reaksiya mühitinin temperaturunun 40-50°C qiymətlərində kimyəvi kinetikaya uyğun olaraq artır. Temperatur 50°C-dən yuxarı qalxdıqda fermentin hissəvi denaturasiyası tədricən artmış, reaksiyanın sürəti getdikcə zəifləmiş, 70°C temperaturda isə onun aktivliyi tamamilə yox olmuşdur (şəkil 4.4). Görüldüyü kimi xarici mühit amilləri (fotoperiodizm, havanın nisbi rütubəti, torpaq quraqlığı və s.) hüceyrə metabolizmində baş verən adaptasiya proseslərinin yaranmasında mühüm rol oynayır. Adaptiv proseslərdə orqanizm tərəfindən qəbul olunan siqnal fiziki-kimyəvi yolla (elektrokimyəvi potensial, fitohormonlar və s.) qəbul olunur.

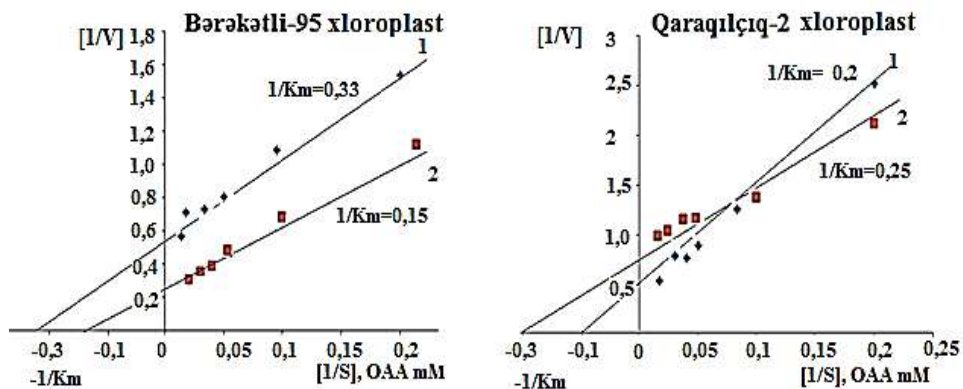


Şəkil 4.4. Quraqlıq şəraitində reaksiya mühitinin temperaturunun buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının MH-nin xNADF-MDH aktivliyinə təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq, B-Arreniusa görə, OA-oksalasetat

Orqanizmlərdə temperaturun biokimyəvi proseslərə təsiri müxtəlif yollarla tənzim edilir. Bunlardan biri *de novo* yüksək temperatura davamlı izoformaların sintezi; ikincisi, aktivləşmə enerjisi (ΔG) və entalpiya [ES] kompleksinin keçid vəziyyəti arasında münasibətlərin dəyişməsi yolu ilə zülalların katalitik effektivliyini artırmaqdan ibarətdir.

REAKSIYA SÜRƏTİNİN SUBSTRATIN QATILIGINDAN ASILILIĞI

Müəyyən olunmuşdur ki, normal suvarma şəraitində becərilmiş Bərəkətli-95 buğda genotipinin flaq yarpaqlarının MH-nin xNADF-MDH reaksiyasında K_m (OA) 3,03 mM, V_{max} isə 1,8 $EU \cdot mq^{-1}$ -ə, K_m (NADFH) üçün, uyğun olaraq 1,33 mM və 4,0 $EU \cdot mq^{-1}$ -a bərabərdir. Qeyd olunan bu göstəricilər su stresində, uyğun olaraq OA üçün 6,67 mM və 4 $EU \cdot mq^{-1}$, NADFH üçün isə 1 mM və 3,44 $EU \cdot mq^{-1}$ -a bərabər olmuşdur. Alınan bu qiymətlərin müqayisəsi göstərir ki, xNADF-MDH-sinin substratı (OA) və kofaktoru (NADFH) arasında rəqabətsiz münasibət olduğundan reaksiya mühitində normal qatılıqda NADFH-nin olması reaksiyanın gedişinə müsbət təsir göstərir (cədvəl 4.7, şəkil 4.5). Qaraqılçiq-2 genotipində isə Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə fərqli mənzərə müşahidə olunmuşdur. Kontrol variantlarda yarpaq hüceyrələrinin xNADF-MDH reaksiyasında OA və NADFH-ın iştirakı şəraitində K_m -lərdə və V_{max} -larda bəzi istisnaları nəzərə almasaq, hər iki variantda azalma müşahidə olunmuşdur. Alınan nəticələr OA ilə NADFH-nin reaksiya mühitində olması, bir-birinə qarşı rəqibsiz inhibitor olduqlarını göstərir. Onların bir-birlərinə olan nisbəti isə hər iki variantda sabit qalmışdır.



Şəkil 4.5. Quraqlığın təsirindən buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarının MH-nin xNADF-MDH reaksiyasının sürətinin OA qatılığından asılı olaraq dəyişməsinin kinetikası. 1-kontrol, 2-quraqlıq

NADF-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın kinetik parametrlərinin analizi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, torpaq quraqlığının təsiri şəraitində Bərəkətli-95 genotipində yarpağın xNADF-MDH reaksiyasında K_m miqdarının cüzi artmasına baxmayaraq, reaksiyanın maksimal sürəti təqribən 2,1 dəfə artmışdır. Bu mənzərə Bərəkətli-95 genotipinin xloroplast fraksiyaları üçün kontrol və təcrübə variantlarında tam eynilik təşkil etmişdir.

Qaraqılçiq-2 genotipinin xloroplast fraksiyalarında isə Bərəkətli-95 genotipindən fərqli olaraq $K_m(OA)$ hər iki variantda azalmış, müvafiq olaraq reaksiyanın maksimal sürəti (V_{max}) 80%-dək artmışdır. Alınan nəticələr fermentin kofaktoru NADFH ilə aparılan təcrübələrdən alınan nəticələrlə oxşarlıq təşkil edir (cədvəl 4.7).

Cədvəl 4.7

Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarında NADF-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın bəzi kinetik parametrləri

Genotip, Fraksiya, Variant,	OA, (0,1-10 mM)		NADFH (1-30 mM)		MgCl ₂ , (1-30 mM)		ATF, (0,1-3 mM)			
	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}		
Boruyaçıxmanın sonu										
Bərəkətli-95	Xlp	K	2,22	0,99	4,09	2,36	4,13	5,91	1,72	4,8
		Q	1,95	3,52	2,81	4,99	4,36	5,88	1,34	3,3
Qaraqılçiq-2	Xlp	K	4,45	1,57	4,11	6,78	3,04	5,23	1,58	5,1
		Q	3,69	2,94	3,19	7,69	3,98	5,22	1,44	2,6
Çiçəkləmə										
Bərəkətli-95	Xlp	K	3,03	1,8	3,7	1,0	3,33	6,67	0,85	4,0
		Q	2,67	4,0	5,0	5,0	3,03	9,09	0,77	2,0
Qaraqılçiq-2	Xlp	K	5,0	2,0	0,75	8,3	2,78	5,44	0,94	4,0
		Q	4,0	5,33	0,67	9,2	3,13	5,67	0,78	2,0
Toxumyetişmə										
Bərəkətli-95	Xlp	K	6,03	5,27	4,98	2,55	6,13	7,02	3,72	7,12
		Q	6,65	9,99	2,67	6,53	6,34	6,78	4,19	8,81
Qaraqılçiq-2	Xlp	K	5,12	4,86	4,32	9,11	5,77	4,29	3,55	6,95
		Q	4,37	8,77	4,83	8,39	5,84	4,30	3,79	7,74

Qeyd: K_m - mM, V_{max} - $EU \cdot mg^{-1}$ zülal

Alınan nəticələr onu deməyə əsas verir ki, quraqlığadavamlı Bərəkətli-95 genotipi ilə quraqlığa davamsız Qaraqılçiq-2 genotipi arasında NADF-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın sürət parametrlərinə görə ciddi fərqlər

vardır. Bərəkətli-95 genotipinin xNADF-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiya K_m -in aşağı və V_{max} -ın yuxarı qiymət alması səbəbindən Qaraqılçiq-2 genotipinə nisbətən sürətlə gedir. Quraqlığın təsirindən bu göstərici daha da artır. Qaraqılçiq-2 genotipində xNADF-MDH-nin K_m -in az artması, V_{max} -ın isə zəif azalması genotiplərdə quraqlığa qarşı fərqli reaksiyaların yaranmasına səbəb olmuşdur. Buna görə də güman etmək olar ki, Qaraqılçiq-2 genotipi su qıtlığı zamanı adaptiv xüsusiyyətlərinin aşağı olması nəticəsində öz vegetasiyasını Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə daha tez başa çatdırır.

Mövcud nəticələrə istinadən qeyd etmək olar ki, fermentin izoformalarının ferment-substrat qarşılıqlı təsiri Mixaelis-Menten qanunauyğunluğuna tabedir. xNADF-MDH-nin düzünə və əksinə gedən reaksiyalarının substratları olan OA və malat bir-birinə qarşı rəqabətli inhibitor rolunu oynayırlar. Belə ki, düzünə gedən reaksiya zamanı reaksiyanın son məhsulu kimi əmələ gələn malat reaksiyasına inhibirləşdirici təsir göstərir. Uzun müddətli torpaq quraqlığına məruz qalmış bitkilərdə malatin inhibirləşdirici təsiri daha da güclənir.

Ədəbiyyat məlumatlarına əsasən ispanaq və taxılların xNADF-MDH ilə C₄-bitkilərin xNADF-MDH-sinin müqayisəli tədqiqi göstərir ki, bu ferment C₄-bitkilərdə NADF⁺-in yüksək qatılığı ilə inhibirləşir [Ferte et al., 1986]. Alınan nəticələrin dəqiq fizioloji və tənzimedic mənası vardır. C₄-bitkilərin MH-nin NADF-MDH-si kompartimentlərin daxilində NADF / NADFH nisbətinin səviyyəsi ilə şərtlənən xloroplastların reduksiyaedici potensialından asılı olan CO₂-nin fiksasiyası prosesi ilə bağlıdır.

NADF-MDH OA-ya (K_m 18-56 mkM), NADFH-yə (24-70 mkM), NADF-yə (40-250 mkM) qarşı yüksək, malata qarşı isə aşağı (2-30 mkM) həssaslığa malikdir ki, bu da bitkilərin yarpaqlarında onların miqdarının çox olması ilə əlaqədardır [Lance, Rustin, 1984].

QURAQLIĞIN AMARANT VƏ BUĞDA YARPAQLARINDA NAD-ME FERMENTİNİN İZOFORMALARININ BƏZİ FİZİKİ- KİMYƏVİ VƏ KİNETİK XASSƏLƏRİNƏ TƏSİRİ

Son dövrlərə qədər su stresinin təsiri ilə əlaqədar amarant bitkisinin yarpağında NAD-ME-nin molekulyar çəkisi haqqında məlumatlara rast gəlinməmişdir. Təcrübələrdə müəyyən olunmuşdur ki, amarant yarpaqlarında NAD-ME-nin ən çox aktivliyə malik olan izoformasını ÖTH-nin mitoxondri-lərində lokalizasiya olunmuşdur (kontrolunda-70%, stressdə-90,6%). Bu izoformaların molekulyar çəkiliəri hər iki variantda yarpaqların ÖTH-nin mitoxondri-lərində 115 kDa, MH və ÖTH-nin sitozolunda isə 110 kDa-ya bərabərdir. Stresin təsirindən ÖTH-nin mitoxondri fraksiyasında molekulyar çəkisi 121 kDa olan induktiv izoforma əmələ gəlmişdir (cədvəl 4.8).

NADF-ME-lər və bitkiyə aid olmayan NAD-ME-lər homooliqomerik zülallardır. Ən çox rast gəlinən forma tetramer olsa da, daha böyük və daha kiçik struktur quruluşları da mövcuddur [Wheeler et al., 2005; Saigo et al., 2004]. Digər tərəfdən, bitki mNAD-ME-ləri 1:1 molyar nisbətində iki fərqli subvahiddən (α , β) ibarət olub [Willeford, Wedding, 1987], onlar alınma mənbəyindən, pH-dan və L-malatin qatılığından asılı olaraq heterodimer, heterotetramer və heterooktamer ola bilərlər. Lonq və əməkdaşları [Long et al., 1994] qeyd etmişlər ki, *A. hypocondriacus* L. növündə təmizlənmiş NAD-ME heterodimer olub, molekulyar çəkisi 65 kDa olan iki ədəd α - və molekulyar çəkisi 60 kDa olan iki ədəd β -subvahiddən ibarətdir. İmmunobloting analiz üsulu ilə α -subvahidlərin ÖTH-nin mitoxondrilərinin matriksində yerləşdiyi müəyyən olunmuşdur. Lakin *Eleusine coracana*, *P. dichotomiflorum* və *A. tricolor* kimi C₄-bitkilərdən təmizlənmiş NAD-ME-lər identik subvahidlərdən ibarət oktamerlərdir. *E. coracana*-da ferment 63 kDa molekulyar çəkisinə malik olan subvahidlərdən ibarət homooktamerdir. Onun aktivliyi 31°C-də pH-7,2-də 60,5 EU/mq zülalə bərabərdir [Murata et al., 1989].

Cədvəl 4.8

NAD-ME izoformalarının bəzi fiziki-kimyəvi parametrləri

Parametr	Sitozol		Mitoxondri		
	<i>Amaranthus cruentus</i> L.				
	MH	ÖTH	MH	ÖTH	ÖTH (yeni)
R _f	0,34	0,34	-	0,21	0,19
M, kDa	110	110	-	115	121
Bərəkətli-95					
	MH sitozol		MH mitoxondri		Yeni, MH mitoxondri
R _f	0,23	-	0,23	-	0,18
M, kDa	76,0	-	76,0	-	-
Quraqlıq	76,0	-	76,0	-	76, 116
Qaraqılçığıq-2					
R _f	0,23	-	0,23	-	0,18
M, kDa	76	-	76	-	-
Quraqlıq	76	-	76	-	76, 116

Cədvəl 4.8-də buğda genotiplərinin yarpaq hüceyrələrinin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-ME-nin fiziki-kimyəvi parametrləri verilmişdir. Cədvəldən görüldüyü kimi genotiplərin quraqlıq davamlılığına görə fərqlənməsinə baxmayaraq, NAD-ME-nin izoenzim spektrində dəyişkənlik baş vermişdir. Fermentin subhüceyrə lokalizasiyasına görə fərqlənən cəmi iki izo-

forması vardır ki, birinin molekul çəkisi 76 kDa-ya bərabərdir. İkinci izoforma quraqlığın təsirindən MH-nin mitoxondrilərində əmələ gəlir və 116 kDa molekul çəkiyə malikdir.

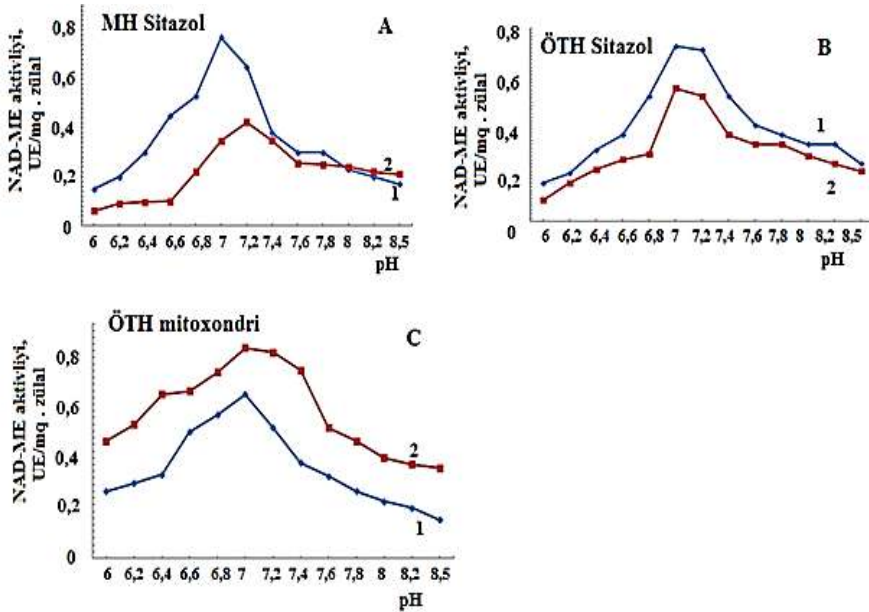
REAKSIYA MÜHİTİNİN pH-NİN NAD-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Malatın dekarboksilləşmə reaksiyasının kinetikasının tədqiqi göstərir ki, amarant yarpaqlarında NAD-ME, digər C₄-bitkilərdə olduğu kimi bu reaksiyanı güclü kataliz edir.

Amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə orqanoidlərində lokalizasiya olunan NAD-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinin pH-dan asılılığı pH-ın 6,0-8,5 həddlərində tədqiq olunmuş və alınan nəticələr 1 şəkil 4.6-da verilmişdir. Şəkildən görüldüyü kimi reaksiya mühitinin pH-nın 6,8-dək artması zamanı K_m azalır, V_{max} isə artır. pH-ın 6,8-7,2 qiymətlərində K_m azalmaqda davam edir, bu zaman V_{max} da artmaqda davam edərək ən yüksək həddə çatır. pH-ın növbəti artımı (7,2-8,0) K_m -in artmasına, V_{max} -ın isə azalmasına gətirib çıxarır. Bu spektr onu deməyə əsas verir ki, pH-ın 6,8-7,2 qiymətlərində (pH_{op} 7,0) [ES] kompleksinin əmələ gəlməsi və reaksiyanın məhsullarına parçalanması asanlaşır. Əksinə, pH-ın 6,0-6,8 və 7,2-8,0 həddlərində K_m -in miqdarının artması, V_{max} -ın getdikcə azalması o deməkdir ki, pH-ın bu həddləri [ES] kompleksinin əmələ gəlməsi üçün ferment daha çox substrat sərf edir ki, bu da arzuolunan əlamət olmadığından reaksiyanın V_{max} -ı aşağı düşür. Alınan nəticələri belə izah etmək olar ki, reaksiya mühitinin pH-nın reaksiya sürətinə təsiri ferment zülalının fəal mərkəzini təşkil edən aminturşu qalıqlarının funksional qruplarını ionlaşdırmaq yolu ilə baş verir. Fəal mərkəzi təşkil edən aminturşular ionlaşma dərəcəsinə görə bir-birindən fərqləndiyi üçün pH həmin aminturşuların funksional qruplarını fərqli ionlaşdırır. Bu da öz növbəsində, müxtəlif pH həddlərində fermentlə onun substratı arasında yaranan yaxınlığın fərqli olmasına gətirib çıxarır ki, yekunda fəal mərkəzdə ən çox ionlaşma yaranmasına səbəb olan pH göstəricisində reaksiya maksimal sürətlə gedir. Burada diqqəti çəkən əsas biokimyəvi göstərici [ES] kompleksinin əmələ gəlməsi və reaksiya məhsullarına parçalanmasından ibarətdir. Şəkildən görüldüyü kimi quraqlığın təsirindən [ES] kompleksinin əmələ gəlməsi və reaksiyanın məhsullarına parçalanması kontrol nümunələrə nisbətən daha fəal baş verir (şəkil 4.6).

Şəkildən görüldüyü kimi amarant yarpaqlarının MH-nin sNAD-ME-nin optimum pH-ı ÖTH-nin sNAD-ME və mNAD-ME izoformalarının optimal pH-na (6,8-7,2) yaxın olub, 7-yə bərabərdir. Analoji nəticələr digər tədqiqatçılar tərəfindən də alınmışdır. Weddinqin nəticələrinə görə NAD-ME-

nin optimum pH-ı neytral mühitdə olub 6,7-7,2-yə bərabərdir [Willeford, Wedding, 1987; Wedding, 1989].

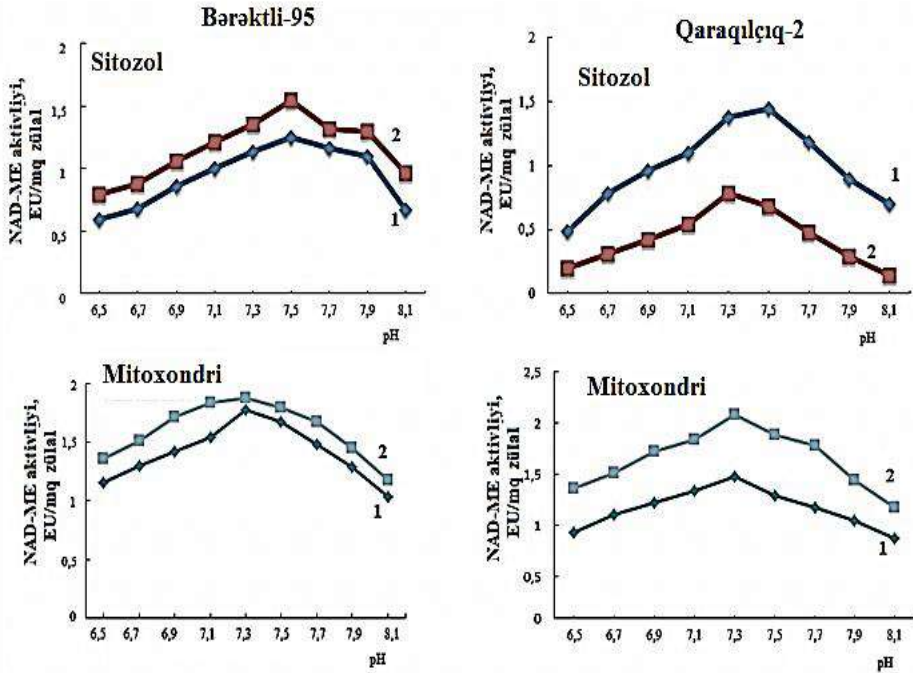


Şəkil 4.6. Quraqlıq şəraitində amarantın inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında reaksiya mühitinin pH-nın NAD-ME aktivliyinin dəyişmə dinamikasına təsiri. 1-kontrol; 2- quraqlıq

Şəkil 4.6 A,B-dən görüldüyü kimi MH və ÖTH hüceyrələrində lokalizasiya olunan NAD-ME izoformalarının aktivliyinə quraqlığın təsiri zamanı fermentin optimal pH-ı dəyişməsə də aktivliyi ~50% azalmışdır. ÖTH-nin mNAD-ME aktivliyi isə digərlərindən fərqli olaraq, 30-35% artmışdır (şəkil 4.6, C). Alınan nəticə NAD-ME-nin daha çox ÖTH-nin mitoxondriləri ilə funksional bağlı olduğunu göstərir. Məlumdur ki, NAD- və NADF-ME-lərin fəaliyyəti daha çox C₄-bitkilərin ÖTH-də C₄-üzvi dikarbon turşularının dekarboksilləşməsi ilə əlaqədar olduğundan, onları adaptasiyaedici ferment də adlandırırlar.

Qeyd etmək olar ki, neytral pH, ilk növbədə, fermentin aktiv mərkəzinin ionlaşmasında tənзимedici rol oynamaqla nativ təbiətinin saxlanması və fermentin ekstremal amillərə qarşı müqavimətinin yüksəlməsinə səbəb olur. Bununla yanaşı, alınan nəticələr göstərir ki, hər iki variantda pH-ın aşağı qiymətlərində reaksiyanın sürəti tədricən artmış, pH-ın 7,1-7,5 qiymətlərində ən yüksək həddə çatmış və pH-ın bundan sonrakı artımı zamanı reaksiyanın sürəti tədricən aşağı düşmüşdür. Müəyyən olunmuşdur ki, quraqlıqadavamlı genotip olan Bərəkətli-95-də quraqlığın təsiri şəraitində reaksi-

ya mühitinin pH-nın bütün qiymətlərində NAD-ME aktivliyi kontrolla müqayisədə həmişə yüksək, Qaraqılçiq-2 genotipində isə əksinə, kontrol nümunələrində həmişə yüksək olmuşdur. Alınan nəticəni onunla izah etmək olar ki, quraqlığadavamlı genotiplərdə fermentin fəal mərkəzini təşkil edən aminturşularının ionlaşması quraqlığa davamsız genotiplərlə müqayisədə daha asan baş verir ki, bu da fəal mərkəzi təşkil edən aminturşuların funksional qruplarının ionlaşma dərəcəsi ilə bağlıdır (şəkil 4.7).



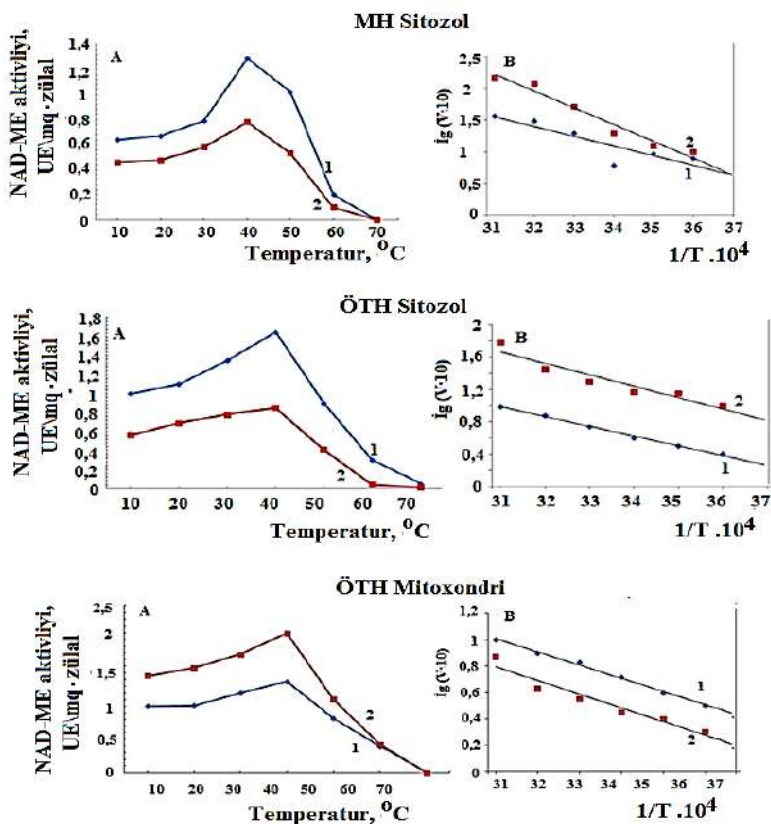
Şəkil 4.7. Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpağın MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında reaksiya mühitinə pH-nın NAD-ME aktivliyinə təsirinə dəyişmə dinamikası. 1-kontrol. 2-quraqlıq

Şəkil 4.7-dən görüldüyü kimi hər iki buğda genotipinin yarpaq hüceyrələrinin mitoxondri fraksiyalarında reaksiya mühitinə pH-nın NAD-ME aktivliyinə təsiri sNAD-ME-nin aktivliyindən və təsir diapazonundan yüksəkdir. Bərəkətli-95 genotipinin mNAD-ME-nin aktivliyi pH-ın 6,9-7,7 həddlərində, Qaraqılçiq-2 genotipində isə pH-ın 7,1-7,5 qiymətlərində yüksək sürətlə getdiyindən reaksiya mühitinə pH-nın fermentin fəal mərkəzinə deformasiyaedici təsiri quraqlığadavamlı genotiplərdə quraqlığa davamsız genotiplə müqayisədə daha intensiv olur. Bunun da əsasında reaksiya mühitinə pH-ı göstəricisi C₃- və C₄-fotosintez mexanizminə malik bitkilərin yarpaq hüceyrələrinin subhüceyrə fraksiyalarında lokalizasiya olunan ferment-

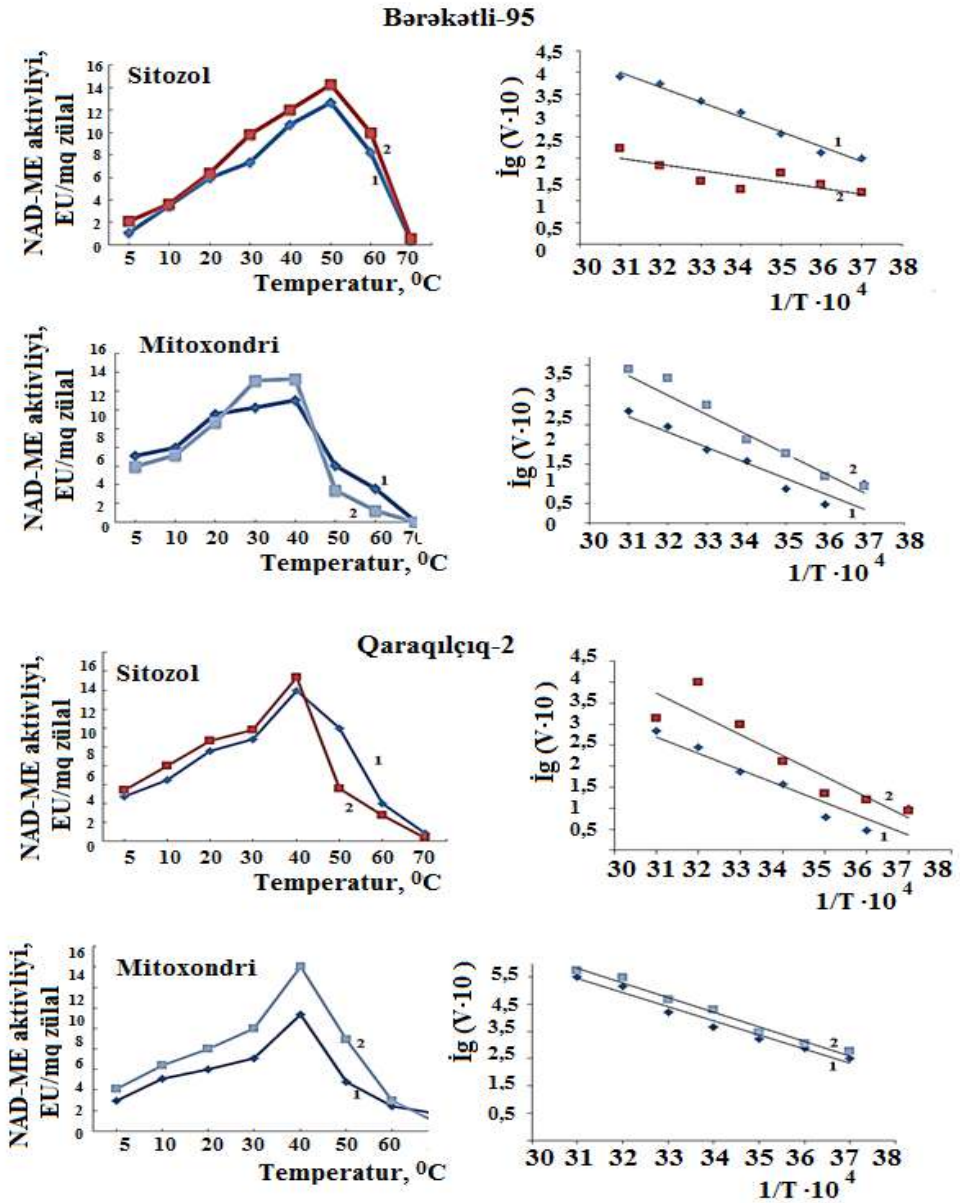
lərin aktivliyinə oxşar təsir edir. Bu genotiplər müxtəlif sistematik qruplara aid olsalar da quraqlıqda pH mNAD-ME izoformalarına daha yüksək aktivləşdirici təsir göstərir. Amarant və buğda genotiplərində fermentin izoformalarının optimal pH-nın zəif qələvi mühitdə olduğu müəyyən edilmişdir.

REAKSIYA MÜHİTİNİN TEMPERATURUNUN NAD-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Aparılan tədqiqatlar temperaturun amarant və buğda yarpaqlarında NAD-ME aktivliyinə təsiri 0-70°C-də tədqiq olunmuşdur (şəkil 4.8, 4.9).



Şəkil 4.8. Quraqlıq şəraitində reaksiya mühitinin temperaturunun amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-ME aktivliyinə təsiri kinetika. 1-kontrol, 2-quraqlıq, A-Mixaelis-Mentenə görə, B-Arreniusa görə



Şəkil 4.9. Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpağın MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-ME aktivliyinin reaksiya mühitinin temperaturundan asılılığının kinetikası. 1-kontrol, 2-quraqlıq

Müəyyən olunmuşdur ki, temperaturun tədricən artması ilə əlaqədar amarant yarpaqlarının MH-də NAD-ME aktivliyi də tədricən artır. Reaksiya

mühitinin temperaturunun 40-50°C hüdudlarında fermentin aktivləşməsi ən yüksək həddə çatmış və temperaturun bundan sonrakı artımı onun aktivliyinin getdikcə azalmasına səbəb olmuşdur. İnkubasiya mühitində temperatur 60°C olduqda fermentin aktivliyinin 40%-i itmiş, 70°C temperaturda cəmi 5-8% aktivliyi qalmış, 80°C-də isə ferment tamamilə inaktivləşmişdir.

Amarant yarpaqlarının MH sitozol və ÖTH-nin sitozol və mitoxondri NAD-ME-lərinin optimum temperatur həddi bir-birinə yaxın olub, 40°C-yə (şəkil 4.8), Qaraqılçiq-2 buğda genotipinin MH-nin mNAD-ME və sNAD-ME, Bərəkətli-95 genotipinin isə mNAD-MDH-nin optimum temperaturlarının amarant yarpaqları NAD-ME-lərinin müvafiq göstəricilərinə uyğun olmasına baxmayaraq, Bərəkətli-95 genotipinin sNAD-ME-nin optimum temperaturu dəyişərək 50°C olmuşdur.

Optimal temperaturda fermentin aktivliyinin artması çox güman ki, aktiv mərkəzi təşkil edən aminturşuların funksional qruplarının dissosiasiyası, onların substratla birləşmək və reaksiyanın məhsuluna çevirmək üçün daha əlverişli konformasiya vəziyyəti alması ilə bağlıdır. Yüksək temperaturda fermentin aktivliyinin itməsi ferment zülalının denaturasiyası və bunun nəticəsində ferment molekulunun fəza quruluşunda baş verən konformasiya dəyişmələri ilə izah oluna bilər. Alınan nəticələrə əsasən, NAD-ME-ni termos-til ferment hesab etmək olar (şəkil 4.8, 4.9).

REAKSIYA SÜRƏTİNİN SUBSTRATIN QATILIGINDAN ASILILIĞI

NAD-ME reaksiyası zamanı reaksiyanın K_m -nin qiyməti artdıqca [ES] kompleksi asanlıqla reaksiyanın məhsuluna parçalanır və reaksiya zəif sürətlə gedir. K_m -in kiçik qiymətlərində isə reaksiya, adətən daha böyük sürətlə gedir. K_m və V_{max} müəyyən şəraitdə hər bir ferment üçün sabitdir. Substratın qatılığının müəyyən qiymətində reaksiyanın sürəti maksimuma çatır (V_{max}). Belə bir vəziyyət bütün ferment molekulunun substratla doyması nəticəsində baş verir. Cədvəl 4.9-dən görüldüyü kimi amarant yarpaqlarında ÖTH-nin mNAD-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın ilkin sürəti substratın qatılığından çox asılıdır.

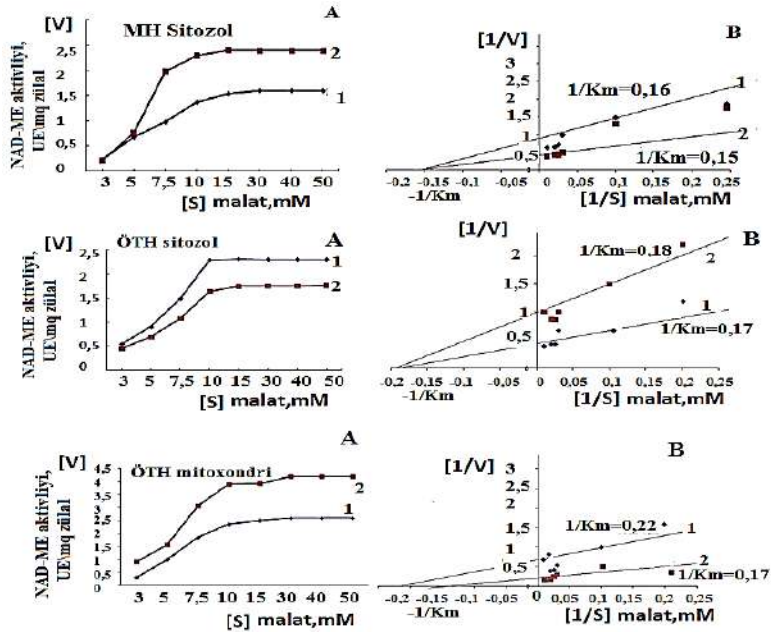
Fermentin kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinin substratın qatılığından asılılıq qrafikinə əsasən, belə bir nəticəyə gəlmək olar ki, ferment-substrat qarşılıqlı təsiri Mixaelis-Menten mexanizmi ilə baş verir (şəkil 4.10 B). Şəkil 4.10 A-dan da görüldüyü kimi $[S_{malat}]$ -in miqdarı 10 mM olduqda, kontrol və təcrübə variantlarda V_{max} , uyğun olaraq 2,4 və 3,9 EU/mq zülal, reaksiyanın sürət sabiti (K_m) isə, uyğun olaraq 1,15 və 1,9 mM olmuşdur (şəkil 4.10 B).

Reaksiya sürətinin substratın qatılığından (L-malatın) asılılığı qrafikinə görə NAD-ME-nin mitoxondri izoformaları üçün ferment-substrat qarşılıqlı təsiri kontrol və quraqlıq variantlarda oxşar olaraq Mixaelis-Menten mexanizmi ilə baş verir (şəkil 4.10, 4.11).

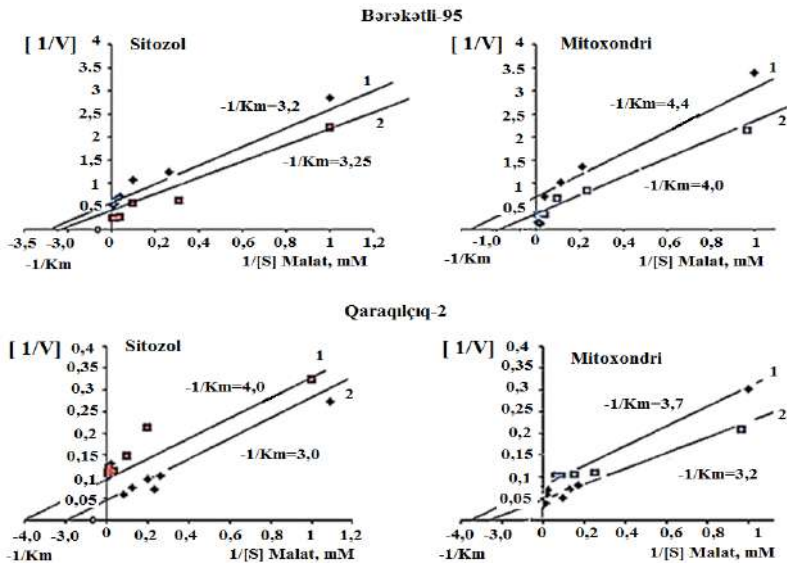
Cədvəl 4.9

Quraqlıq şəraitində amarant və buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaq hüceyrələrinin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın bəzi kinetik parametrləri (K_m -mM, V_{max} -EU/mq zülal)

Toxuma, Variant, Fraksiya	NAD, (1-50 mM)		L-malat, (1-50 mM)		MnCl ₂ , (1-50 mM)		ATF, (0,1-3 mM)		pH opt	T, °C opt		
	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}				
<i>Amaranthus cruentus</i> L.												
MH	K	Sit	4,0	1,66	7,0	1,6	22,2	0,48	1,35	2,56	7,0	40
		Mit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Q	Sit	3,45	0,8	7,6	1,2	23,8	1,0	1,41	2,22	7,0	40
		Mit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ÖTH	K	Sit	0,62	2,0	5,5	1,0	20,0	0,9	1,21	4,17	7,0	40
		Mit	4,45	1,67	4,5	1,2	1,25	4,0	1,35	8,33	7,0	40
	Q	Sit	4,5	10,0	7,6	2,0	14,9	2,0	1,28	2,7	7,0	40
		Mit	4,76	3,33	4,5	1,9	15,2	18,9	1,59	5,0	7,0	40
Bərəkətli-95												
MH	K	Sit	0,4	55,5	0,31	2,0	0,31	0,9	5,0	1,54	7,4	40-50
		Mit	0,29	27,1	0,23	1,43	0,25	10,0	2,86	1,25	7,4	40-50
	Q	Sit	0,48	100,	0,31	2,5	0,33	20,0	4,0	2,04	7,4	40-50
		Mit	0,29	50,0	0,25	3,33	0,22	15,4	2,78	0,9	7,4	40-50
Quraqlıçlıq-2												
MH	K	Sit	0,36	5,0	0,25	10,0	0,26	0,9	3,33	3,85	7,4	40-50
		Mit	0,25	25,0	0,31	20,0	0,25	6,25	3,33	10,0	7,4	40-50
	Q	Sit	0,35	2,0	0,33	20,0	0,24	13,3	2,5	6,67	7,4	40-50
		Mit	0,22	13,3	0,27	14,3	0,26	11,8	5,0	6,67	7,4	40-50



Şəkil 4.10. Quraqlıq zamanı amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpağın MH sitozol və ÖTH-nin sitozol və mitoxondrilərində NAD-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinin substratın qatılığından asılılığı. A-Mixaelis-Mentenə görə, B-Lay-nuiver Berkə görə, 1-kontrol, 2-stres



Şəkil 4.11. Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpağın MH-nin sitozol və mitoxondrilərində NAD-ME aktivliyinin substratın (L-malatin) qatılığından asılılığı. 1-kontrol, 2- quraqlıq

QURAQLIĞIN BUĞDA YARPAQLARINDA NADF-ME FERMENTİNİN İZOFORMALARININ FİZİKİ-KİMYƏVİ VƏ KİNETİK XASSƏLƏRİNƏ TƏSİRİ

Göstərdiyimiz kimi NADF-ME-nin buğda yarpaqlarında MH-nin sitozol və xloroplastlarında lokalizasiya olunan və $R_f = 0,29$, molekul çəkisi – 72 kDa olan bir ədəd izoformas, molekul çəkiliəri 36 kDa bərabər iki ədəd subvahiddən ibarətdir. Quraqlığın təsirindən fermentin izoferment spektrində heç bir izoforma dəyişkənliyi baş verməsə də, zülalının miqdarında nəzərəcarpacaq dərəcədə artım müşahidə olunmuş və buna müvafiq olaraq fermentin aktivliyi də yüksəlmişdir (şəkil 3.21, 3.22; cədvəl 3.14, 4.10).

C₃-buğda və C₄-qarğıdalı bitkilərinin yarpaqlarının subhüceyrə fraksiyalarında Western blot və immunolokalizasiya analiz üsulları ilə NADF-ME izoformalarının lokalizasiyası və molekul çəkiliərinin öyrənilməsi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, qarğıdalı yarpaqlarının ÖTH-nin xloroplastlarında fermentin 62 kDa molekul çəkili bir, həmin bitkinin etiolə olunmuş yarpaqlarında və köklərində isə 72 kDa molekul çəkili bir izoformas, vardır [Maurino et al., 1997].

Cədvəl 4.10

Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NADF-ME fermentinin bəzi fiziki-kimyəvi parametrləri

Genotip, Variant, Fraksiya		Aktivlik	pH	t, °C	M, kDa	M subv, kDa	R _f	N izofor
B-95	K Sitozol	0,064	7,1-7,5	40	72,0	36,0	0,29	1
	Xloroplast	1,38	6,9-7,5	30-40	72,0	36,0	0,29	1
	Q Sitozol	0,084	7,1-7,5	40	72,0	36,0	0,29	1
	Xloroplast	1,25	6,9-7,5	30-40	72,0	36,0	0,29	1
K	Sitozol	0,052	7,1-7,5	30-50	72,0	36,0	0,29	1
	Xloroplast	1,64	6,9-7,5	40	72,0	36,0	0,29	1
Q-2	Q Sitozol	0,011	7,1-7,5	30-50	72,0	36,0	0,29	1
	Xloroplast	1,26	6,9-7,5	40	72,0	36,0	0,29	1

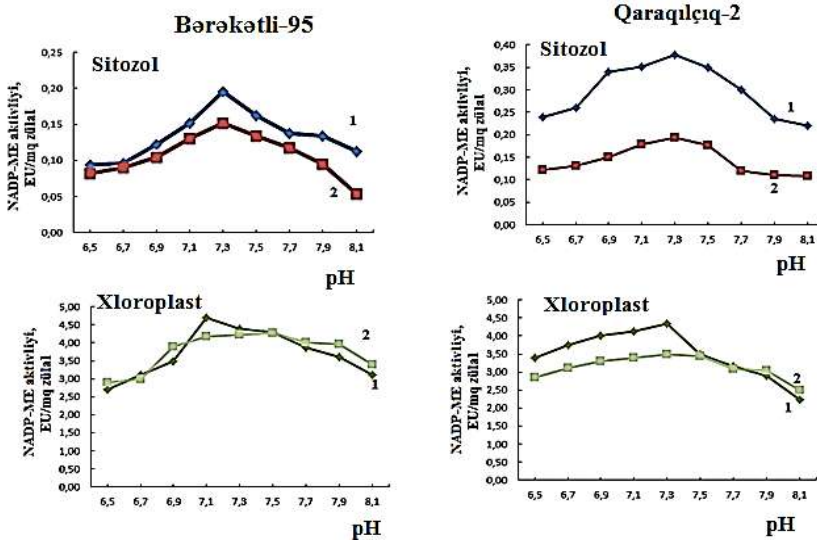
REAKSİYA MÜHİTİNİN pH-NIN NADF-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Amarant və buğda genotiplərinin yarpaqlarında NAD-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın kinetik parametrlərinin (K_m , V_{max}) reaksiya mühitinin pH-dan asılılığını tədqiq edərkən müəyyən etdik ki, fermentin katalitik aktivliyi reaksiya mühitinin pH-nın 6,8-7,2 oblastında maksimum qiymət alır, pH-ın bundan yuxarı qiymətlərində isə reaksiyanın sürəti getdikcə azalmağa

başlayır. Ədəbiyyat mənbələrində buna bənzər məlumatlar vardır (Wilford, Wedding, 1987).

Digər MDH sistemi fermentlərində olduğu kimi buğda yarpaqlarında da lokalizasiyasından asılı olmayaraq NADF-ME geniş pH optimumuna malikdir (pH-6,9; 7,9) (şəkil 4.12, cədvəl 4.11). Alınan nəticələrə əsasən, sNADF-ME pH-ın 7,1-7,5, xNADF-ME isə pH-ın 6,9-7,5 qiymətlərində optimum aktivliyə malik olurlar.

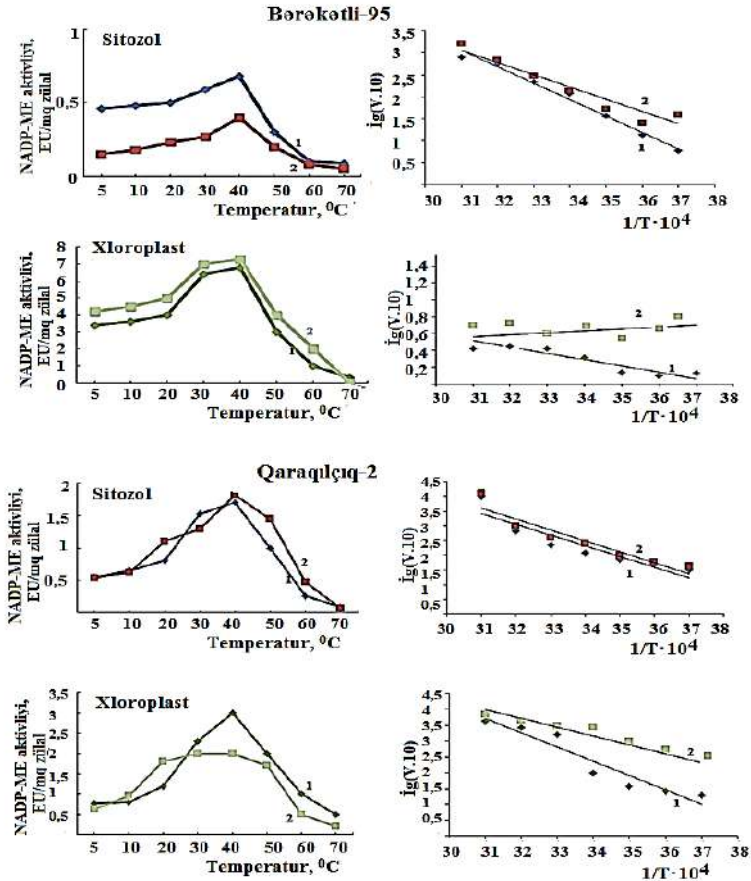
NADF-ME aktivliyinin pH-dan asılılığını genotiplər və fraksiyalar üzrə müqayisəsi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, pH göstəricisinə görə Bərəkətli-95 genotipi Qaraqılçiq-2 genotipi arasında cüzi fərqi nəzərə almasaq, eyni aktivliyə malikdirlər. Məsələn, kontrol nümunələrində Bərəkətli-95 genotipinin xNADF-ME aktivliyi, Qaraqılçiq-2 genotipində xNADF-ME aktivliyindən ~1,5 dəfə yüksək olmasına baxmayaraq, su stresində həmin göstəricilər bir-birinə yaxındır. Əsaslı fərq hər iki genotip üzrə sitozol və xloroplast fraksiyalarını bir-biri ilə müqayisə edərkən meydana çıxmışdır. Müəyyən olunmuşdur ki, Bərəkətli-95 genotipinin sitozol fermentinin aktivliyi xloroplast fermentinin aktivliyindən 20-25 dəfə, Qaraqılçiq-2 genotipində isə bu göstərici 10 dəfə aşağı olmuşdur. Quraqlığın təsirindən hər iki genotipin yarpaqlarının sitozol və xloroplast fraksiyalarında fermentin aktivliyinin pH-dan asılılığı kontrol nümunələri ilə müqayisədə aşağı düşmüşdür. Bu nəticələr, çox güman ki, pH-ın və quraqlığın təsirindən ferment molekulunda və onların aktiv mərkəzlərinin fəza konfigurasiyasında baş verən struktur dağılmaları ilə bağlıdır.



Şəkil 4.12. Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində reaksiya mühitinin pH-nın yarpaqların MH-nin sitozol və xloroplast fraksiyalarında NADF-ME aktivliyinə təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2- quraqlıq

REAKSIYA MÜHİTİNİN TEMPERATURUNUN NADF-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

NADF-ME fermentinin temperatura həssaslığını müəyyən etmək üçün alınan yüksək təmizlənmiş ferment preparatı 0-70°C temperatur həudlarında 5 dəq inkubasiya olunduqdan sonra tədqiq olunmuş və alınan nəticələr şəkil 4.13-də və cədvəl 4.11-də verilmişdir.



Şəkil 4.13. Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpağın MH-nin sitozol və xloroplast fraksiyalarında NADF-ME aktivliyinin reaksiya mühitinin temperaturundan asılılığının dəyişmə dinamikası. 1-kontrol. 2-quraqlıq

Şəkil və cədvəldən görüldüyü kimi Qaraqılçiq-2 genotipində sNADF-ME 30-50°C-də, Bərəkətli-95 genotipində sNADF-ME 30-40°C, digər fraksiyalarda isə 40°C-də optimal aktivlik göstərmişdir. Görünür, xloroplast fer-

mentlərinə xas olan əlamət, burada da özünü göstərmiş və NADF-ME nisbətən aşağı (30-40°C) temperatur həddlərində optimal aktivliyə malik olmuşdur.

Torpaq quraqlığı şəraitində və optimum temperaturda fermentin aktivliyinin artması, həmin şəraitdə fermentin lokalizasiyasına, fizioloji funksiyasına və molekül çəkisinə görə tamamilə oxşar olan davamlı izoformaların sintezi ilə izah oluna bilər.

REAKSIYA SÜRƏTİNİN SUBSTRATIN QATILIGINDAN ASILILIĞI

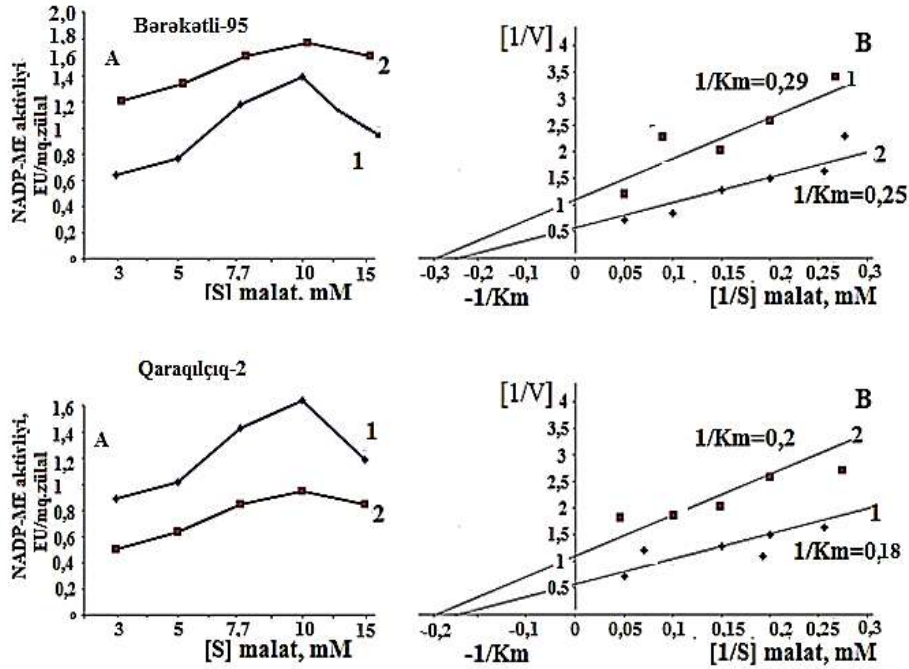
Buğda genotiplərinin yarpaq hüceyrələrində NADF-ME fermentinin aktivliyinin 95-98%-nin hüceyrənin xloroplast fraksiyasında lokalizasiya olduğunu nəzərə alaraq, tədqiq etdiyimiz fermentin kataliz etdiyi reaksiyanın kinetik xassələrini, aktivliyinin tənzimlənmə mexanizmlərinin tədqiqini, əsasən, xloroplast fraksiyası üzərində davam etdirmişik. Bu zaman alınan nəticələri özündə əks etdirən 4.14-cü şəkildən və 4.11-ci cədvəldən görüldüyü kimi malatın aşağı qatılıqlarında reaksiyanın sürəti fermentativ kinetikaya uyğun olaraq artsa da, yuxarı qatılıqlarda azalmışdır.

Cədvəl 4.11

Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaq toxumalarının subhüceyrə fraksiyalarında NADF-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın bəzi kinetik parametrləri

	Toxuma, Variant, Fraksiya	NADF		L-malat		MnCl ₂		ATF		
		K _m , mM	V _{max}	K _m , mM	V _{max}	K _m , mM	V _{max}	K _m , mM	V _{max}	
Bərəkətli-95										
MH	K	Sit	7,7	2,0	5,2	0,3	4,6	2,5	0,5	8,0
		Xlp	0,8	5,0	3,5	0,9	2,0	2,7	0,9	2,5
	Q	Sit	4,0	3,3	5,6	0,8	3,7	3,5	0,4	4,0
		Xlp	1,0	6,7	4,0	2,0	1,7	5,0	0,8	1,3
Quraqlıq-2										
MH	K	Sit	3,3	1,0	4,9	0,4	5,6	2,7	1,0	5,0
		Xlp	1,4	5,0	5,6	0,8	5,6	3,1	0,5	6,7
	Q	Sit	5,0	3,4	4,4	1,0	5,9	3,3	0,9	2,0
		Xlp	0,6	10,0	5,0	1,8	5,9	3,4	0,8	1,7

Qeyd: MH-mezofil, K-kontrol, Q-quraqlıq, V_{max}-EU/mq zülal



Şəkil 4.14. Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH xloroplastlarında NADP-ME aktivliyinin substratın qatılığından asılılıq kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq, A-Mixaelis-Mentenə görə, B-Laynuiver-Berkə görə

Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 genotiplərində bitkinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində torpaq quraqlığının təsirindən MH-nin sitozol fraksiyasında NADP-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın V_{max} -ı torpaq quraqlığının təsirindən ~2,5 dəfə artmışdır. Bu artıma torpaq quraqlığının təsirində Bərəkətli-95 genotipində daha çox substrat (K_m) istifadə etməklə, Qaraqılçiq-2 genotipində isə, bunun əksinə, K_m -in azalması nəticəsində nail olunmuşdur (cədvəl 4.11). Buğda genotiplərinin xNADP-ME-nin tədqiqi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, fermentin aktivliyi torpaq quraqlığının təsiri zamanı təqribən 2 dəfəyədək artmış, K_m -in dəyişməsi isə sNADP-ME-yə uyğun olaraq baş vermişdir.

Şəkil 4.14-dən görüldüyü kimi L-malatın yüksək qatılığında quraqlıq fotosintez aparatına təsir etməklə xloroplastların parçalanmasına və bununla da fermentin aktivliyinin zəifləməsinə səbəb olur. C_3 -bitkilərdən fərqli olaraq C_4 -bitkilərdə ferment xloroplastlarda malatın dekarboksilləşməsi reaksiyasını daha fəal kataliz edir və fotosintezin ilkin substratlarla təmin edilməsində mühüm rol oynayır.

V FƏSİL

FERMENTLƏRİN AKTİVLİYİNİN TƏNZİMİ

NAD-MDH aktivliyi *in vivo*-da metabolizmin ikincili məhsulu olan bir çox kiçikmolekullu birləşmələrlə tənzim olunur. NAD-MDH aktivliyinin bu cür qeyri-spesifik biotənzimi bitki metabolizminə nəzarətdə mühüm rol oynamaqla, bitki hüceyrələrində ikincili birləşmələrin toplanıb qalmasının qarşısını alır. Belə metabolitlərdən malon, fumar, sitrat, sis-akonitat üzvi turşuları NAD-MDH aktivliyini rəqabətli inhibirləşdirmək imkanlarına malikdirlər. Askorbin turşusu, suksinat, yağ turşuları NAD-MDH aktivliyinə təsir etmir. Substrat-ana-loq adlandırılan bu birləşmələr NAD-MDH-nin aktiv mərkəzinin substratla birləşən sahəsi ilə qarşılıqlı təsirdə olmaqla təsir göstərirlər [Tobin, Givan, 1989].

Krebs dövrünün bütün substratları arasında malat yeganə birləşmədir ki, NAD-MDH-nin hüceyrə strukturları ilə, o cümlədən mitoxondri membranı ilə rəqabətə imkan yaradır. Oksalasetat bu qarşılıqlı təsirin daha güclü inhibitoru hesab olunur və NAD-MDH-nin mitoxondri səthindən ayrılmasına, yaxud Krebs dövrünün multiferment kompleksinin dağılmasına, asetil-KoA, sitrat və ATF isə hüceyrə strukturlarının səthində adsorbsiyasına təsir etməklə onun rəqabətli inhibirləşməsinə səbəb olur [Tobin, Givan, 1989].

NAD-MDH-nin funksional vəziyyətinə nəzarətdə metabolitlər və müxtəlif yüklü ionlar vacib rol oynayırlar. Bir çox tədqiqatçılar bitki NAD-MDH-nin oliqomer allosterik fermentlərə aid edirlər. Əvvəlki tədqiqatlarda noxud, üzüm, çay və limondan ayrılmış NAD-MDH fermentinin allosterik xassələri təsdiqlənmiş [Mullinax et al., 1982], limon və noxuddan ayrılmış NAD-MDH-nin kooperativ xassələri isə yalnız eksperiment yolu ilə pH-ın 4,7 və 5,2 qiymətlərində müşahidə edilmişdir. Abou və Uallas [Abou-Zamzam, Wallace, 1970] *Citrus limetoides* və *Citrus limon* növlərinin SNAD-MDH və mNAD-MDH-nin fizioloji şəraitə yaxın mühitdə allosteriklik xassəsinə malik olmadıqlarını göstərmişlər. Mikulasovanın apardığı tədqiqatlarda NAD-MDH-nin aşağı pH-da kooperativ xassəsinin, mühitin pH-nın təsiri ilə ferment molekulunun dördüncü quruluşunun labilləşməsi ilə bağlı olduğu güman edilir [Mikulasova et al., 1998]. Belə olduqda, NAD-MDH-nin konformasiya quruluşunun pozulması nəticəsində fermentin katalitik aktivliyi aşağı düşsə də, müəyyən müddətdən sonra substratın təsiri ilə dördüncü quruluşun stabilləşməsi baş verir və nəticədə ferment öz əvvəlki katalitik aktivliyini tamamilə bərpa edir. Bu tip mexanizm zamanı reaksiya sürətinin substratın qatılığından asılılığı siqmoidal əyri ilə xarakterizə olunur. Limon və noxudda da NAD-MDH-nin kooperativlik xassəsi substratın stabilləşdirici təsiri ilə allosteriklik göstərmir [Musrati et al., 1998]. $NAD^+/NADH$, $NADP^+/NADPH$, ATP/ADP nisbətləri bitkilərdə MDH aktivli-

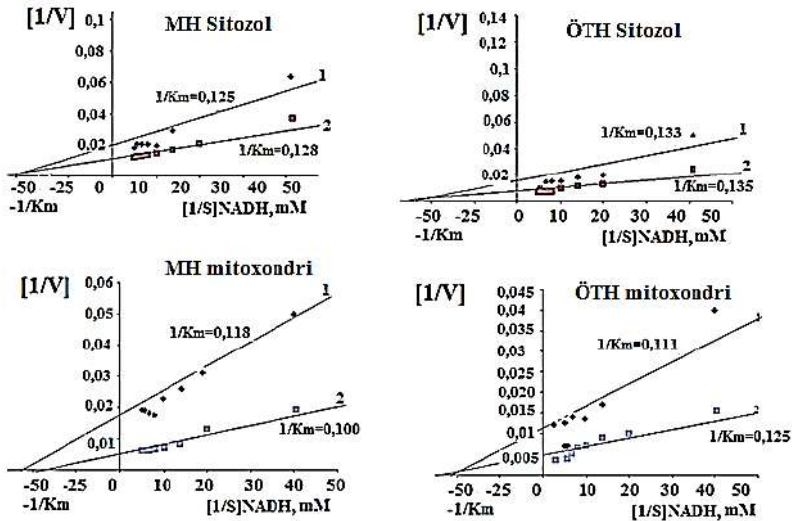
yinin tənzim olunmasında mühüm rol oynayır. NAD-MDH izoformaları makroergik birləşmələrin və bərpəedici ekvivalentlərin sintezi və parçalanması reaksiyasında iştirak edirlər [Хелдт, 2011].

Məlumdur ki, CO₂-nin gecə fiksasiyası və vakuollarda malatın toplanması, həmçinin NAD⁺/NADH nisbəti bitkilərdə müxtəlif mexanizmlərlə tənzim olunur. NAD⁺/NADH nisbəti yüksək olduqda sNAD-MDH aktivliyi tormozlanır, nəticədə vakuollarda malatın toplanması ləngidiyindən CO₂-nin fiksasiyası artır. Ehtimal olunur ki, NAD⁺/NADH və MDH arasında olan bu asılılıq, digər orqanoidlərdə də mümkündür [Афанасьев, Березина, 2011; Хелдт, 2011].

İspanaqdan ayrılmış xNADF-MDH-nin müqayisəli tədqiqi zamanı məlum olmuşdur ki, C₄-bitkilərdə NADF⁺-ın yüksək qatılığı NADF-MDH aktivliyini inhibirledir. Bu effekt C₃-bitki olan ispanaqda müşahidə olunmamışdır. Alınan nəticə mühüm fizioloji və tənzimləyici əhəmiyyət kəsb edir. Belə ki, C₄-bitkilərdə xloroplastların bərpəedici potensialı MH-də CO₂ fiksasiyasını həyata keçirən NADF-MDH-nin kofaktoru NADF/NADF⁺ nisbətindən asılıdır [Ferte et al., 1986]. ATF daha güclü inhibitor kimi ən çox mNAD-MDH-yə təsir göstərir [Glatthaor et al., 1972].

KOFAKTORUN (NADH) NAD-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

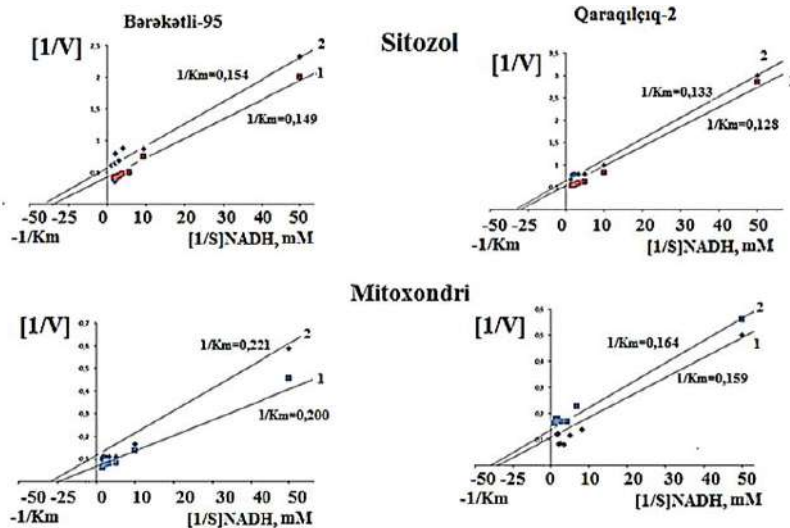
Amarant yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NADH-ın NAD-MDH aktivliyinə təsirinin kinetikası cədvəl 4.5 və şəkil 5.1-də verilmişdir.



Şəkil 5.1. Quraqlıq zamanı amarantın inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH reaksiyasının sürətinin kofermentin (NADH) qatılığından asılı olaraq dəyişməsinin kinetikası (Laynuver-Berkə görə). 1-kontrol, 2-quraqlıq

Cədvəl və şəkildən görüldüyü kimi NADH-nin 0,1-0,2 mM qatılıqlarında ferment OA-nın reduksiya reaksiyasını daha sürətli kataliz edir. MH və ÖTH-nin sNAD-MDH və mNAD-MDH-lərinin NADH-in bu qatılıqlarında kataliz etdiyi reaksiyanın K_m (OA)-lərin bir-birinə yaxın olmasına baxmayaraq, V_{max} (OA)-ları kəskin fərqlənmişdir. Hər iki toxumanın sNAD-MDH və mNAD-MDH-lərinin V_{max} (OA)-ları kontrolda bir-birinə yaxın olub ~50-55 EU/mq zülal təşkil edir. Bu göstərici ÖTH-nin kontrol nümunələrində fərqli olub 90,9 EU/mq zülala bərabərdir. Bitkinin tədqiq olunan hər bir toxum və fraksiyalarında V_{max} (OA) kontrol nümunələri ilə müqayisədə ~2-3 dəfə yüksəkdir. Görünür, K_m -in sabit, V_{max} -ın isə dəyişkən olması MDH-nin substratları OA və malatın rəqabətli inhibitor olmaları ilə bağlıdır.

Buğda genotiplərində MH-nin hüceyrə orqanoidlərində NADH kofermentinin NAD-MDH aktivliyinə təsirinin kinetikası 4.5-ci cədvəldə və 5.2-ci şəkildə verilmişdir. Cədvəl və şəkildən görüldüyü kimi Bərəkətli-95 genotipində NADH 0,02-1,0 mM qatılıqlarda mNAD-MDH-yə aktivləşdirici təsiri yüksək olur. Bu zaman kontrol və təcrübə nümunələrində V_{max} (NADH) uyğun olaraq 9,1 və 1,5 EU/mq, Qaraqılçiq-2 genotipinin mNAD-MDH-si üçün isə bu göstərici 6,7 və 2,0 EU/mq zülala bərabər olmuşdur. Bu genotiplərin sNAD-MDH-si üçün V_{max} (NADH) mNAD-MDH ilə müqayisədə 3-4 dəfə aşağıdır. Beləliklə, buğda genotipləri öz aralarında sNAD-MDH və mNAD-MDH reaksiyasının K_m və V_{max} qiymətlərinə görə fərqlənir və amarant bitkisi ilə müqayisədə 10-20 dəfə aşağıdır.



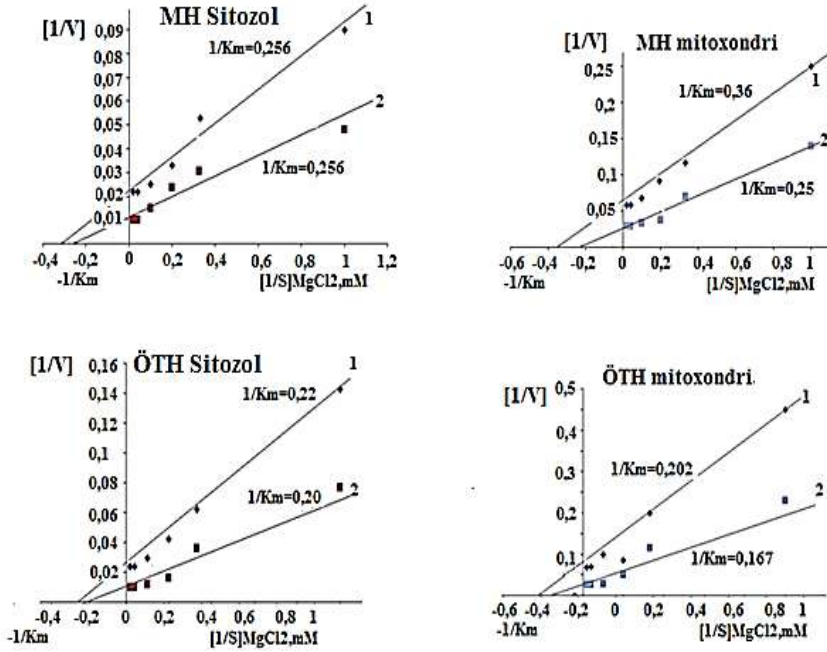
Şəkil 5.2. Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarının MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinin NADH qatılığından asılı olaraq dəyişməsinin kinetikası. 1-kontrol, 2-quraqlıq

AKTİVATORUN ($MgCl_2$) NAD-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Kimyəvi birləşmələr arasında fermentlərin aktivliyinin tənzimində iştirak edən, aktivator və inhibitor xassələrinə malik bir çox birləşmələr vardır. Bir- və ikivalentli metal ionları - Mg^{2+} , Mn^{2+} , K^+ , Ca^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} və s. belə birləşmələrdən olub, fermentlərin aktivliyinə təsiri aşağıda göstərilən xassələri ilə əlaqədardır [Cornish-Bowden, 2012; Cook, Cleland, 2007]. 1) Onlar fermentin prostetik qrup funksiyasını yerinə yetirirlər, yaxud elektronların akseptoru və donoru olmaqla reaktiv qrupları lazımi müvazinətdə saxlayan elektrofil, yaxud nukleofil qismində çıxış edirlər. 2) Aktivatorlar substratın aktiv mərkəzə birləşməsinə və ferment-substrat kompleksinin əmələ gəlməsinə şərait yaradırlar. 3) Bəzi hallarda metal substratla birləşərək fermentin həqiqi substratını əmələ gətirirlər. 4) Aktivatorlar aktiv mərkəzin və ferment molekulunun bütövlükdə üçölçülü quruluşunun formalaşmasında və stabilizasiyasında iştirak edirlər. 5) Metallar, həmçinin allosterik modifikator kimi allosterik mərkəzlə qarşılıqlı təsirə girərək fermentin daha optimal fəza quruluşunun və aktiv ferment-substrat kompleksinin yaranmasına səbəb olurlar. Bu nöqteyi-nəzərdən əlavə etmək olar ki, ionların optimal qatılığı zülalın dördüncü quruluşunu stabilizasiya edir və MDH-nin ayrı-ayrı izoformalarının katalitik effektivliyini artırır. Şəraitdən asılı olaraq Mg^{2+} -ionları MDH izofermentləri üçün kofaktor rolunu oynaya bilər. Eyni zamanda bitki hüceyrəsində Mg^{2+} -ionları rəqabətli inhibitor kimi təsir etmək xassəsinə də malikdir və yüksək qatılıqlarda, NAD-MDH molekulu ilə qarşılıqlı təsirdə olmaq üçün substratla rəqabət aparır [Пине́йру и др., 1991]. Metal ionlarının fermentə stabilizasiya təsiri, izoformalarının aminturşu ardıcılığından da asılıdır. Adaptasiyanın bu forması orqanizmlərə əlverişsiz inkişaf şəraitində öz metabolizmini qorumağa imkan verir. Müəyyən olunmuşdur ki, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} ionları gənəgərçək bitkisinde daha kiçik qatılıqlarda (0-50 mM) təsir göstərilir. Bu təsir, görünür onların hüceyrə daxilindəki funksiyaları ilə əlaqədardır. Məsələn, Mg^{2+} və Mn^{2+} bir çox fermentlərin kofaktorudur. Həmin ionlar müxtəlifmənşəli NAD-MDH izofermentlərinin də kofaktoru ola bilər. Onların rolu indi də aydın deyildir, məlum eksperimental nəticələr bir-birini inkar etdiyindən əlavə tədqiqatların aparılmasına ehtiyac var. Amma bir çox tədqiqatçılar NAD-MDH-nin Mg^{2+} -ə, bəzi enzimlərin isə Mn^{2+} -ə qarşı mütləq spesifikliyə malik olduğunu göstərmişlər [Wedding, 1989; Хелдт, 2011; Афанасьева, Березина, 2011].

Mg^{2+} ionlarının 1,0 mM OA olan aktivlik mühitində fermentin aktivliyinə tənzimləyici təsirləri tədqiq olunarkən müəyyən olunmuşdur ki, amarant və buğda genotiplərinin yarpaqlarında bu ion çox aşağı qatılıqlarda fermentin aktivliyinə tənzimləyici təsir göstərir (cədvəl 4.5, şəkil 5.3, 5.4). Bu ionlar aşağı qatılıqlarda NAD-MDH izoformalarına stabilizasiya, yüksək

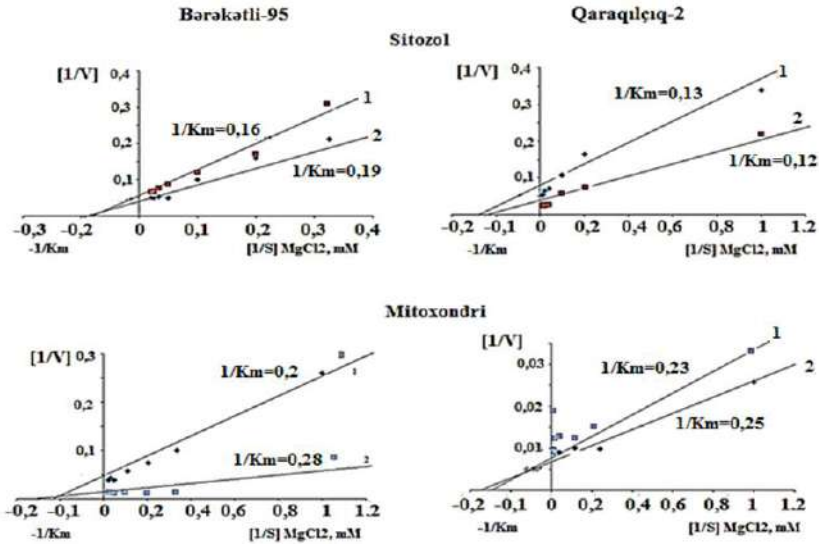
qatılıqlarda isə inhibirləşdirici təsir göstərilir. Müəyyən olunmuşdur ki, Mg^{2+} -ionlarının NAD-MDH izofermentlərinə aktivləşdirici təsiri reaksiya mühitinə metal əlavə olunan zaman stabilləşməyə gətirib çıxaran substratların qarşılıqlı təsiri ilə bağlıdır.



Şəkil 5.3. Quraqlıq zamanı amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH və ÖTH-nin subhüeyrə fraksiyalarında $MgCl_2$ -nin NAD-MDH fermentinə aktivləşdirici təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq

Şəkil və cədvəldən görüldüyü kimi quraqlığın təsirindən Mg^{2+} -ionları Bərəkətli-95 genotipinin mNAD-MDH-sinə Quraqlıçiq-2 genotipi ilə müqayisədə daha fəal aktivləşdirici təsir göstərmişdir. Quraqlığın təsirindən mNAD-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın maksimum sürəti (V_{max}) Bərəkətli-95 genotipinin sitozol fermenti ilə müqayisədə ~5, xloroplast fermenti ilə müqayisədə isə ~16 dəfə yüksəkdir. Bu göstəricilər Quraqlıçiq-2 genotipində, uyğun olaraq təqribən 3,5 və 10-a bərabərdir (şəkil 5.4, cədvəl 4.5).

Mg^{2+} -ionlarının NAD-MDH fermentlərinin katalitik mexanizmində kofaktor kimi rolu mübahisəlidir. Bunun üçün normal suvarılan və su stressinə məruz qalmış bitkilərin yarpaqlarının subhüeyrə fraksiyalarında aparılan təcrübələrdə reaksiyanın K_m və V_{max} -ın analizi bu ionun MDH fermentinin izoformaları üçün spesifik kofaktor olmadığını göstərir.



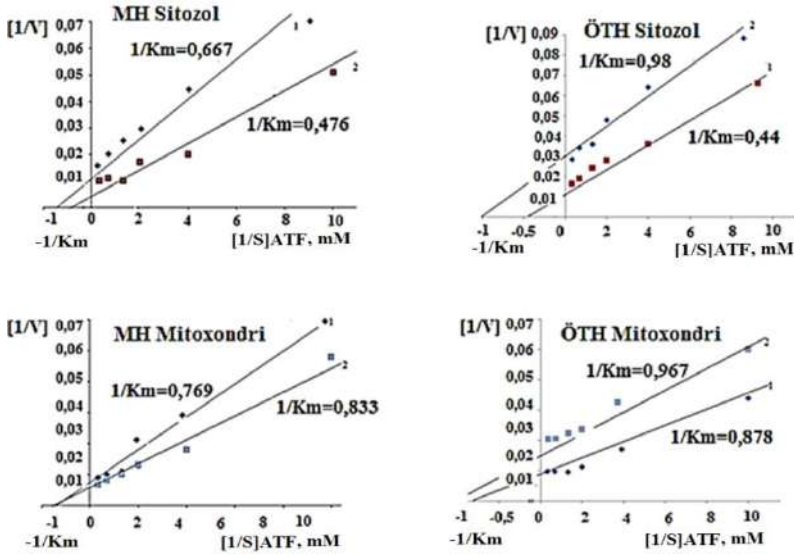
Şəkil 5.4. Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarının MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinə $MgCl_2$ -nin aktivləşdirici təsirinin kinetikasi. 1-normal; 2-quraqlıq

İNHİBİTORUN (ATF) NAD-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

MDH sistemi fermentlərinin aktivliyinin tənzimində özünü bitki və heyvan mənşəli fermentlərin effektiv inhibitoru kimi göstərən adenozin nukleotidlərindən ATF daha çox təsir effektivinə malikdir. Eksperimental nəticələr göstərir ki, MDH izoformalarından mNAD-MDH ATF-in təsirinə daha çox həssasdır. Bu, görünür, bitki hüceyrəsində katabolizm (Krebs dövrəsi) və anabolizm (qlükoneogenez) kimi metabolik yolların uzlaşdırılmış fəaliyyətində mühüm həlqələrdən birini təşkil etməsi ilə bağlıdır. Bu xəssə mNAD-MDH-nin Krebs dövrəsində malatla sitrat arasında rəqulyator saytının əsas elementlərindən olması ilə əlaqədardır. mNAD-MDH aktivliyi $NAD^+/NADH$ və ATF/ADF nisbətinin ciddi nəzarəti altında olur [Tobin, Givan, 1989].

Adenozin nukleotidlərinin NAD-MDH izofermentlərinin aktivliyinə tənzimləyici təsirinin kinetikasi haqqında vahid baxışın hələl olumaması səbəbindən, biz sistematik cəhətdən bir-birindən uzaq olan amarant və buğda yarpaqlarında ATF-in müxtəlif qatılıqlarında NAD-MDH-nin müxtəlif izoformalarının aktivliyinin dəyişmə dinamikasını öyrənmişik.

Amarant və buğda yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH aktivliyinə ATF-in müxtəlif qatılıqlarının inhibirləşdirici təsirinin nəticələri 5.5, 5.6-cı şəkillərdə və 4.5-ci cədvəldə əks olunmuşdur. Müəyyən olunmuşdur ki, buğda və amarant yarpaqlarının NAD-MDH aktivliyi ATF-in 3 mM qatılığında kəskin azalır.



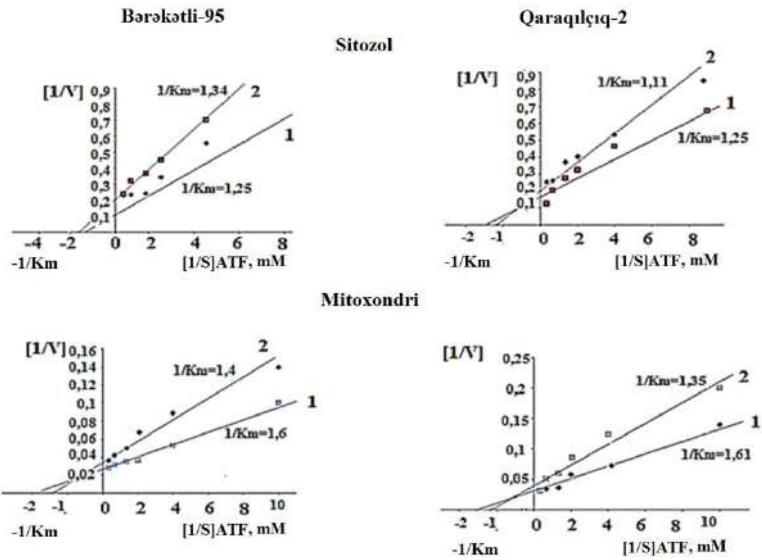
Şəkil 5.5. Quraqlıq zamanı amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqlarının MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında ATF-in NAD-MDH fermentinə inhibirləşdirici təsirinin kinetikası. 1-kontrol, 2- quraqlıq

Cədvəldən və şəkildən görüldüyü kimi amarant yarpaqlarında quraqlığın təsirdən MH-nin sitozol və mitoxondri fraksiyalarında NAD-MDH reaksiyasının maksimal sürəti (V_{max}) quraqlığın təsirdən sitozolda 5, mitoxondrilərdə isə 0,25 dəfə, ÖTH-də isə, uyğun olaraq 2,5 və 1,5 dəfə azalmışdır. Alınan bu rəqəmlər onu deməyə əsas verir ki, ATF MH-də lokalizasiya olunan sMDH izoformalarına ÖTH ilə müqayisədə daha çox inhibirləşdirici təsir göstərir ki, bu da görünür, sMDH-nin subhüceyrə lokalizasiyası ilə bağlıdır.

Ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, NAD-MDH, fumaraza kimi bəzi tənəffüs fermentləri Kalvin-Benson dövrəni fermentlərinin aktivliyinə yaxınlıq göstərərək üzvi turşuların sintezini də həyata keçirirlər. Bəzi bitki hüceyrələrinin vakuolunda fermentlərin substratları malat və fumarat toplanır [Chia et al., 2000; Zell et al., 2010]. Bu fermentlər bitki orqanizmlərində nitratın mənimsənilməsində, üzvi turşuların sintezi yolu ilə pH-ın və osmotik təzyiğin tənzimlənməsində iştirak etməklə, sintez olunan birləşmələrin karbon skeletinin yaranmasında karbon mənbəyi funksiyasını həyata keçirirlər. NAD-MDH və fumarazanın aktivliyinin, digər tənəffüs fermentləri ilə müqayisədə yüksək olmasını malat və fumarat kimi substratların yüksək qatılığı ilə izah edirlər [Zell et al., 2010].

Buğda yarpaqlarında ATF-in NAD-MDH aktivliyinə inhibirləşdirici təsirinin kinetik xassələrinin tədqiqi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, ATF 0,1-10 mM qatılıqlarda buğda genotiplərində MDH aktivliyinə torpaq qu-

raqlığı üzündən daha çox inhibirləşdirici təsir göstərir. $MgCl_2$ -də olduğu kimi $K_m(ATF)$ -nin qiymətlərinin sitozol fraksiyalarında bir-birinə nisbi yaxın olmasına baxmayaraq, reaksiyanın $V_{max}(ATF)$ -da nəzərəcarpacaq dəyişkənlik baş vermişdir (şəkil 5.6, cədvəl 4.5).



Şəkil 5.6. Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarının subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinə ATF-in inhibirləşdirici təsirinin kinetikası. 1-kontrol; 2-quraqlıq

Cədvəldən görüldüyü kimi, $K_m(ATF)$ -in hər iki buğda genotipinin sitozolunda bir-birinə nisbi yaxın olmasına baxmayaraq, Bərəkətli-95 genotipinin yarpaqlarında sNAD-MDH $V_{max}(OA)$ 2, mitoxondridə 1,3 dəfə, Qaraqılıq-2 genotipinin sitozolunda isə, uyğun olaraq 1,1 və 1,5 dəfə azalmışdır. Alınan nəticələr onu deməyə əsas verir ki, ATF normal fizioloji qatılıqlarda NADH-lə fermentin yaxınlığını azaltmaqla NAD-MDH izoformalarını inhibirləşdirir (şəkil 5.6, cədvəl 4.5). Müəyyən olunmuşdur ki, ATF mMDH-ni rəqabətli yolla da inhibirləşdirə bilər.

Fermentin izoformaları geniş pH optimumuna malik olub, temperatura qarşı davamlılıq göstərir. Ferment subhüceyrə fraksiyalarından asılı olaraq, öz substratı OA-ya qarşı yüksək, malata qarşı isə aşağı həssaslığa malikdir.

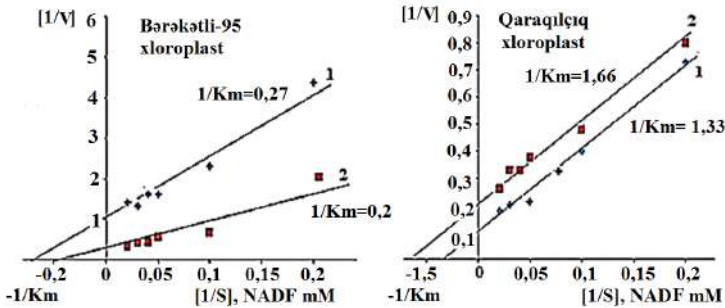
NAD-MDH reaksiyası, ümumilikdə, Mixaelis-Menten qanunauyğunluğuna tabe olub, heç bir allosteriklik göstərmir. Fermentin aktivliyi aralıq substratlar, bir- və ikivalentli ionlarla ciddi tənzim olunur. ATF-in fermentin izoformalarına inhibirləşdirici təsiri quraqlığın təsirindən daha da artır.

Qeyd etmək olar ki, təmizlənmiş MDH preparatları müxtəlif məqsədli işlərdə, o cümlədən xəstəliklərin diaqnostikasında, laborator tədqiqatlarda, sənayedə qiymətli bioloji birləşmələrin sintezində və qida məhsullarının vəziyyətinə nəzarət olunmasında istifadə oluna bilər.

NADF-MDH AKTİVLİYİNİN TƏNZİM OLUNMASI. KOFAKTORUN (NADFH) NADF-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Nikotin kofermentləri olan NADF və NADFH biokimyəvi kinetikada ən çox tədqiq olunan kofaktorlardandır. Bu birləşmələr bir çox fermentlərin kofermenti olub, onların aktivləşməsinə səbəb olur. Oksidləşmiş və reduksiya olunmuş nikotin kofermentləri hər iki formada düzünə və əksinə gedən reaksiyalar zamanı qarşılıqlı bir-birinə çevrilirlər.

Buğda yarpaqlarında nikotin kofermentlərinin normal suvarma və torpaq quraqlığı şəraitində ontogenezin aktiv inkişaf mərhələlərində NADF-MDH aktivliyinin işıqla induksiya olunan izoformasının aktivliyinə təsiri 4.7-ci cədvəldə və 5.7-ci şəkildə verilmişdir. Cədvəldən görüldüyü kimi NADFH 2-5 mkmol qatılıqlarda bütün mərhələlərdə fermentin xloroplast izoformasına hər iki variantda ~0,5-1,5 dəfəyədək aktivləşdirici təsir göstərir. Kofaktorun fermentin aktivliyinə təsiri 1-3 mkmol OA iştirakında daha da artaraq təqribən 2-4 dəfəyə bərabər olmuşdur.



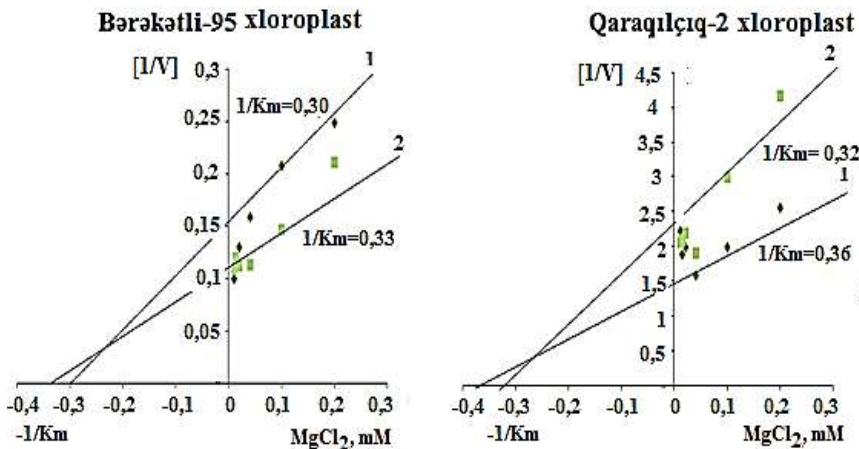
Şəkil 5.7. Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarının MH-nin xloroplast fraksiyasında NADPH-in müxtəlif qatılıqlarının NADF-MDH-nin kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinə təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq

Alınan nəticələr onu deməyə əsas verir ki, aktivliyi işıqla tənzim olunan fermentlərdə olduğu kimi, NADF-MDH fermenti də xloroplastlarda lokalizasiya olunmaqla subhüceyrə və funksional səviyyələrdə özünün nativ strukturunu saxlamaq üçün işığın, quraqlığın, aktivator və inhibitorların təsirinə qarşı uzlaşdırılmış fəaliyyət göstərməklə, fotosintez kimi həyati vacib prosesin yüksək səviyyədə saxlanmasına imkan yaradır.

5.7-ci şəkildən görüldüyü kimi Bərəkətli-95 buğda genotipinin MH-nin xloroplast fraksiyalarında kontrolda $K_m(\text{NADPH})$ 3,7 mM; $V_{\max}(\text{NADPH})$ 1 EU/mq, quraqlıqda $K_m(\text{NADPH})$ 5 mM, $V_{\max}(\text{NADPH})$ 5 EU/mq zülal, Qaraqılçiq-2 genotipində isə bu göstəricilər, uyğun olaraq 0,75 mM, 8,33 EU/mq zülal, torpaq quraqlığında isə 0,6 mM, 9,2 EU/mq zülal qiymətinə malikdir. Nəticələr göstərir ki, Qaraqılçiq-2 genotipində ferment reaksiyanı Bərəkətli-95 genotipi ilə müqayisədə təqribən 6 dəfə sürətlə kataliz edir. Bu onunla izah oluna bilər ki, quraqlığın təsirindən reaksiyanın sürəti aşağı düşdüündən o, prosesin davam etməsi üçün daha çox substrat sərf etsə də nəticədə ciddi keyfiyyət dəyişkənliyi baş vermir.

AKTİVATORUN (MgCl_2) NADF-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Şəkil 5.8-dən görüldüyü kimi bivalent Mg^{2+} ionlarının təsiri zamanı buğdanın Bərəkətli-95 genotipinin flaq yarpaqlarının MH-nin xloroplast fraksiyalarında hər iki variantda K_m -lər bir-birinə yaxın olsalar da $K_m(\text{kontrol})$ 3,33 mM; $K_m(\text{təcrübə})$ 3,03 mM, təcrübə variantlarında reaksiyanın maksimal sürəti (V_{\max} 9,09 EU·mq⁻¹ zülal) kontrol variantla (V_{\max} 6,67 EU·mq⁻¹ zülal) müqayisədə ~1,5 dəfə artmışdır. Quraqlığa davamsız Qaraqılçiq-2 genotipində isə bunun əksinə olaraq, təcrübə variantlarında reaksiyanın maksimal sürəti (K_m (təcrübə) 3,13 mM; V_{\max} 0,44 EU·mq⁻¹ zülal) kontrollarla (K_m (kontrol) 2,78 mM; V_{\max} 0,67 EU·mq⁻¹ zülal) müqayisədə təqribən 12 dəfəyədək azalmışdır (cədvəl 4.7).

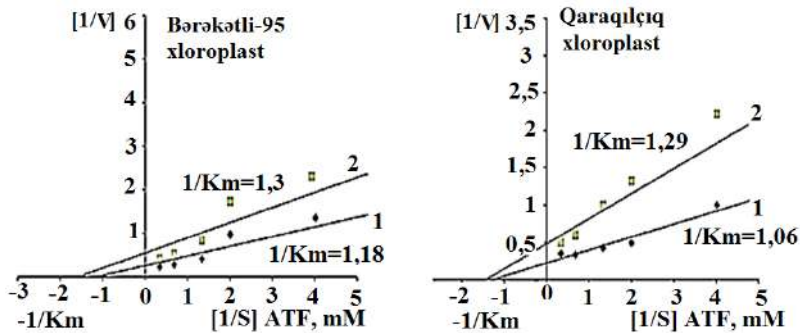


Şəkil 5.8. Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarının MH-nin xloroplast fraksiyasında MgCl_2 -nin müxtəlif qatılıqlarının NADF-MDH fermentinə aktivləşdirici təsirinin kinetikası. 1-kontrol, 2-quraqlıq

İNHİBİTORUN (ATF) NADF-MDH AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

ATF NADF-MDH aktivliyinə inhibirləşdirici təsir göstərərək, aktivliyinin itirilməsinə səbəb olur. Təcrübələrimizdə reaksiyanın K_m -i Bərəkətli-95 genotipinin xloroplastlarında kontrol variantlarda 0,85 mM, təcrübə variantlarında isə 0,77 mM olduğu halda, reaksiyanın maksimal sürəti V_{max} kontrolə 4 $EU \cdot mq^{-1}$ zülaldan azalaraq, təcrübə variantlarında 2,0 $EU \cdot mq^{-1}$ zülalə enmişdir, yəni reaksiyanın maksimal sürəti kontrolə nisbətən təqribən 2 dəfəyədək aşağı düşmüşdür.

Bu qanunauyğunluq Qaraqılçiq-2 genotipində də müşahidə edilmişdir. Belə ki, Qaraqılçiq-2 genotipinin flaq yarpaqlarının MH-nin xloroplast fraksiyalarında kontrol variantlarda K_m 0,94 Mm, V_{max} 4 $EU \cdot mq^{-1}$ zülal olduğu halda, təcrübə variantlarında bu göstəricilər müvafiq olaraq 0,78 mM və 2 $EU \cdot mq^{-1}$ zülalə bərabər olmuşdur. Bu o deməkdir ki, hər iki buğda genotipində ATF reaksiyanın katalizatoru NADF-MDH fermentinə inhibirləşdirici təsir göstərərək reaksiyanın sürətini aşağı salır və bu inhibirləşmə torpaq quraqlığının təsirindən daha da güclənir (şəkil 5.9, cədvəl 4.7).



Şəkil 5.9. Torpaq quraqlığı zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində flaq yarpaqlarının MH-nin xloroplast fraksiyasında ATF-in müxtəlif qatılıqlarının NADF-MDH fermentinə inhibirləşdirici təsirinin kinetikası. 1-kontrol, 2-quraqlıq

Cədvəl 4.7-dən görüldüyü kimi, ATF-in normal suvarılan və torpaq quraqlığı şəraitində buğda yarpaqlarında NADF-MDH aktivliyinə inhibirləşdirici təsiri su stresinin müddətindən, ontogenezin mərhələlərindən, substratın və götürülən aktivatorun və kofermentin qatılığından ciddi asılıdır. Belə ki, ATF-in buğda yarpaqlarının NADF-MDH-yə inhibirləşdirici təsiri bəzi maraqlı faktları ortaya çıxarmışdır. NADFH, OA və $MgCl_2$ -nin sabit şəraitdə bitkinin inkişafının boruyaçıxma mərhələsində ATF-in fermenti kataliz etdiyi reaksiyanın V_{max} -larını təqribən 3 dəfə azaltmış və inhibirləşmə bitkinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində hər iki variantda və hər

iki genotipdə iki dəfəyə bərabər olmuşdur. Bundan fərqli olaraq, bitkinin inkişafının toxumyetişmə mərhələsində ATF-in təsirindən fermentin aktivliyi nəinki inhibirlənmiş, əksinə fermentin $V_{\max-1}$ OA, NADFH və $MgCl_2$ -nin normal qatılıqlarında təqribən 50% artırmışdır. Belə bir vəziyyətin yaranmasına səbəb inhibitorun NADF-MDH zülalının sintezinin inhibitorunu susdurması nəticəsində mümkün olması güman edilir.

Beləliklə, aparılan tədqiqatlar nəticəsində quraqlıqadavamlılığına görə fərqlənən Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 payızlıq bərk buğda genotiplərinin yarpaqlarında NADF-MDH fermentinin subhüceyrə paylanması, izoferment spektri və kataliz etdiyi reaksiyanın kinetik xassələrinin quraqlığın təsirindən dəyişməsi müqayisəli öyrənilmiş və müəyyən olunmuşdur ki, Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin yarpaqlarında NADF-MDH fermenti subhüceyrə paylanmasına, elektroforetik hərəkətliliyinə, katalitik aktivliyinə və zülallarının miqdarına görə bir-birindən fərqlənirlər [Babayev et al., 2015].

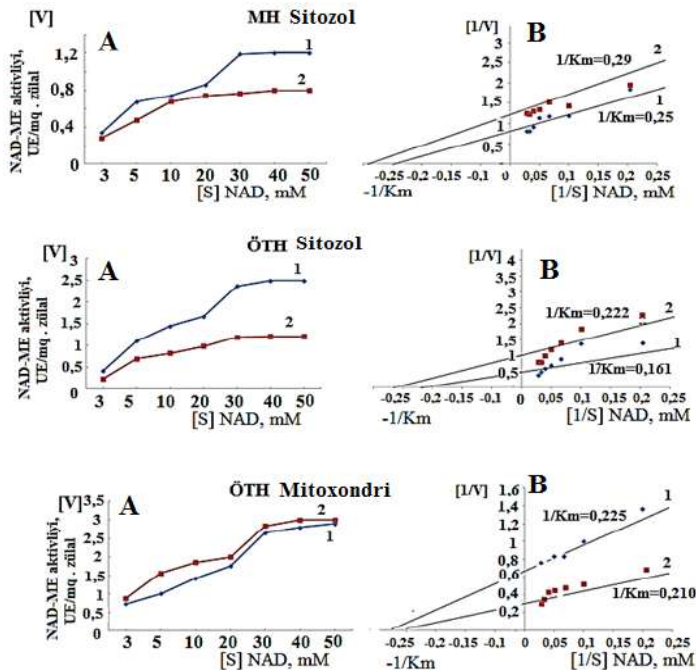
Fermentin düzünə və əksinə gedən reaksiyalarının substratları oksalasetat və malat bir-birinə qarşı rəqabətli inhibitor rolunu oynayirlər və torpaq quraqlığının təsirindən bu effekt daha da güclənir. Mg^{2+} ionları K_m -in eyni qiymətlərində quraqlığın təsirindən reaksiyanın sürətini artırdığı halda, ATF fermentin kataliz etdiyi reaksiyaya güclü tormozlayıcı təsir göstərir. Qaraqılçiq-2 genotipindən fərqli olaraq Bərəkətli-95 genotipində fəal mərkəz aktivator və inhibitorların, pH və temperaturun təsirindən substratı özünə birləşdirmək və onu reaksiyanın məhsuluna çevirmək üçün daha asan əlverişli konformasiya vəziyyət almaq xassəsinə malik olur.

Hər iki buğda genotipinin yarpaqlarında NADF-MDH izoformalarının aktivliyi mühitin temperaturunun $50^{\circ}C$ -dək artdıqca artır. Temperaturun bundan sonrakı artımı zamanı ($60^{\circ}C$ -dək) ferment aktivliyinin 50-70%-ni itirir, $70^{\circ}C$ -də isə fermentin aktivliyi azalaraq sifra yaxınlaşır. NADF-MDH fermentinin izoformaları daha geniş pH optimumuna malikdirlər (pH-7,5; 8,8) və reaksiyanın başlanğıcında sürəti substratın qatılığından çox asılı olur.

NAD-ME AKTİVLİYİNİN TƏNZİM OLUNMASI. KOFAKTORUN (NAD⁺) NAD-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Amarant yarpaqlarında NAD-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın kinetik parametrlərinə NAD⁺-in müxtəlif qatılıqlarının təsirinin tədqiqi zamanı müəyyən olunmuşdur ki, NAD-ME fermentinin aktivliyi yarpağın MH və ÖTH-nin sitozol, ÖTH-nin mitoxondri fraksiyalarında lokalizasiya olunmuşdur. MH və ÖTH-nin sitozol fraksiyalarında normal suvarılan variantlarda kofermentin qatılığı artdıqca reaksiyanın sürəti də artır. Belə ki, 30 mM NAD⁺ qatılığında reaksiyanın sürəti maksimuma çatır və substratın qatılığının bundan sonrakı artımı reaksiyanın sürətinə təsir etmir. MH-də

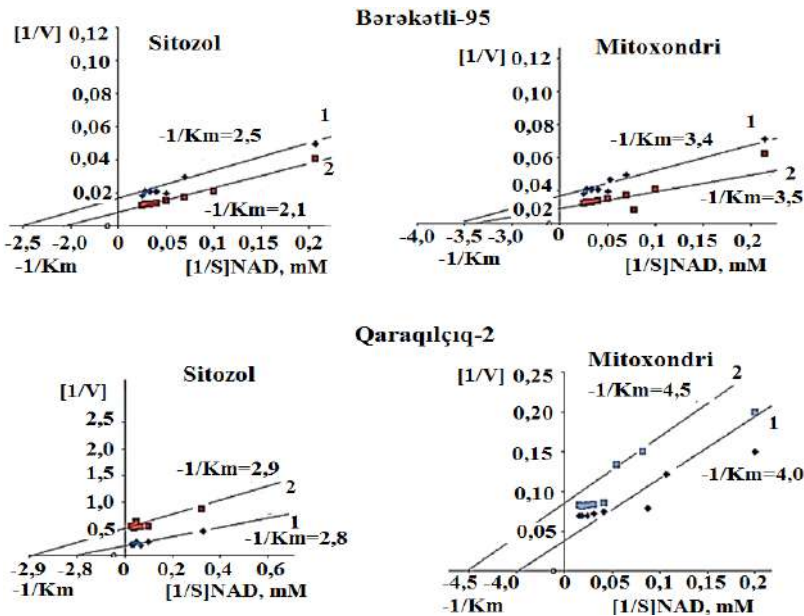
(kontrol) sitozolda reaksiyaların kinetik göstəriciləri belədir: V_{\max} (NAD^+) 1,66 E/mq zülal, K_m (NAD^+) 4 mM, ÖTH-də isə bu göstəricilər, uyğun olaraq V_{\max} (NAD^+)=2 E/mq zülal, K_m (NAD^+) 0,62 mM-a bərabərdir. Quraqlığın təsirindən həmin fraksiyalarda K_m və V_{\max} göstəriciləri aşağıdakı kimidir: MH sitozolda V_{\max} (NAD^+) 0,8 E/mq zülal, K_m (NAD^+) 3,45 mM, ÖTH sitozolda isə V_{\max} (NAD^+) 10,0 E/mq zülal, K_m (NAD^+) 4,5 mM. ÖTH-nin mitoxondri fraksiyalarında da NAD^+ -in 30 mM qatılığında reaksiyanın kinetik parametrləri kontrol variantda V_{\max} (NAD^+) 1,67 E/mq zülal, K_m (NAD^+) 4,76-ya bərabər olsa da, həmin fraksiyada quraqlığın təsirindən reaksiyanın kinetik parametrlərində kəmiyyət və keyfiyyətcə fərqli nəticələr alınmışdır – V_{\max} (NAD^+) 3,33 E/mq zülal, K_m (NAD^+) 4,76 mM. Alınan nəticələrə əsasən, söyləmək olar ki, amarant bitkisinin yarpaq hüceyrələrində NAD-ME fərqli kinetik xassəyə malikdir və bu xassə quraqlığın təsirindən daha da dəyişir. Belə ki, NAD^+ kofermentinin qatılığında əsli olaraq ÖTH-nin mitoxondri fraksiyalarında lokalizasiya olunan NAD-ME-nin V_{\max} və K_m -i MH və ÖTH-nin sitozol fraksiyalarında həmin göstəricidən yüksək olub, daha çox uyğunlaşdırıcı xassəyə malikdir (şəkil 5.10, cədvəl 4.9).



Şəkil 5.10. Quraqlıq şəraitində amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NAD-ME-nin kataliz etdiyi reaksiyanın sürətinin kofermentin (NAD^+) qatılığında əsli olaraq dəyişməsinin kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq

MH və ÖTH-nin sitozol fraksiyalarında quraqlığın təsirindən NAD-ME reaksiyasının maksimum sürəti ~ 2 dəfə azalmış, ÖTH-nin mitoxondri fraksiyalarında isə əksinə, reaksiyanın maksimal sürəti kontrolla müqayisədə ~ 2 dəfə artmışdır. Alınan nəticələr göstərir ki, amarant yarpaqlarında ÖTH-nin mNAD-ME fermentinin aktivliyi MH və ÖTH-nin sitozolunda lokalizasiya olunan izoformaların aktivliyindən $\sim 2-6$ dəfə yüksəkdir ki, bu da onun funksiyası ilə bağlı ola bilər. Belə ki, amarant yarpaqlarının ÖTH-nin mitoxondrilərində C₄-üzvi dikarbon turşularının dekarboksilləşməsinin əsas fermenti NAD-ME olduğuna görə quraqlıqda həmin toxumada baş verən Kalvin-Benson dövrünün əsas fermenti olan RBFK-nı CO₂ ilə təmin etmək üçün NAD-ME aktivliyinin artması uyğunlaşma əlaməti hesab oluna bilər.

Amarant yarpaqlarından fərqli olaraq buğda yarpaqları NAD-ME daha yüksək V_{max} ilə xarakterizə olunur. Bərəkətli-95 genotipinin yarpaqlarında lokalizasiya olunan sNAD-ME Qaraqılçiq-2 genotipinin yarpaqlarında lokalizasiya olunan sNAD-ME ilə müqayisədə təqribən 10 dəfə yüksək aktivliyə malikdir. Quraqlığın təsirindən Bərəkətli-95 genotipinin yarpaqlarında sNAD-ME və mNAD-ME-nin V_{max-1} təqribən 2 dəfə artmışdır. Qaraqılçiq-2 genotipində isə bunun əksinə olaraq, V_{max} quraqlıq variantlarda sitozolda təqribən iki dəfə azalmış, mitoxondrilərdə isə nəzərəcərpacaq dərəcədə artmışdır (şəkil 5.11).



Şəkil 5.11. Torpaq quraqlığı şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH-nin sitozol və mitoxondri fraksiyalarında kofermentin (NAD⁺) NAD-ME aktivliyinə təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2- quraqlıq

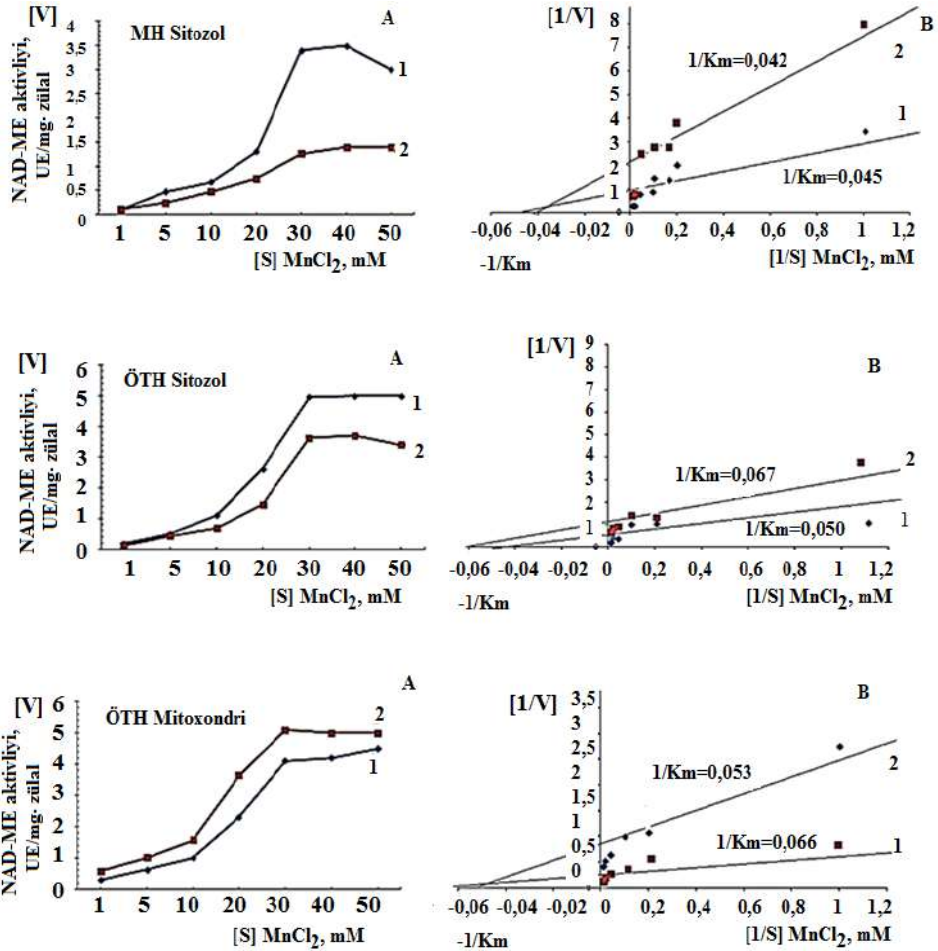
Alınan nəticələrin analizi göstərir ki, amarant C₄-dikarbon turşularının dekarboksilləşməsi mexanizminə görə C₄-bitkilərin NAD-ME yarımtipinə aid olduğu üçün onlarda təkamül nəticəsində adaptasiya mexanizmi əmələ gəlmişdir və stresin təsiri şəraitində mexanizmin fəaliyyətə başlaması nəticəsində bitki stresin təsirindən müəyyən müddət qorunmuş olur. Buğda genotiplərində isə buna oxşar mexanizm olmadığından, qurqlıqadavamlılığına görə fərqlənən genotiplərdə stresin təsirindən fermentlər səviyyəsində müvəqqəti müdafiə reaksiyaları yaranır. Müəyyən olunmuşdur ki, quraqlıqadavamlı Bərəkətli-95 genotipində sNAD-ME və mNAD-ME aktivliyinin quraqlığın təsirindən təqribən iki dəfə artmasına baxmayaraq, quraqlığa davamsız Qaraqılçiq-2 genotipində həmin izoformaların aktivliyi təqribən iki dəfə azalmışdır (şəkil 5.11, cədvəl 4.7).

Ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, fermentin NAD⁺-a yaxınlığı yüksək deyildir və K_m-in qiyməti substratın fizioloji qatılığına yaxındır [Cannal et al., 1984].

AKTİVATORUN (MnCl₂) NAD-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

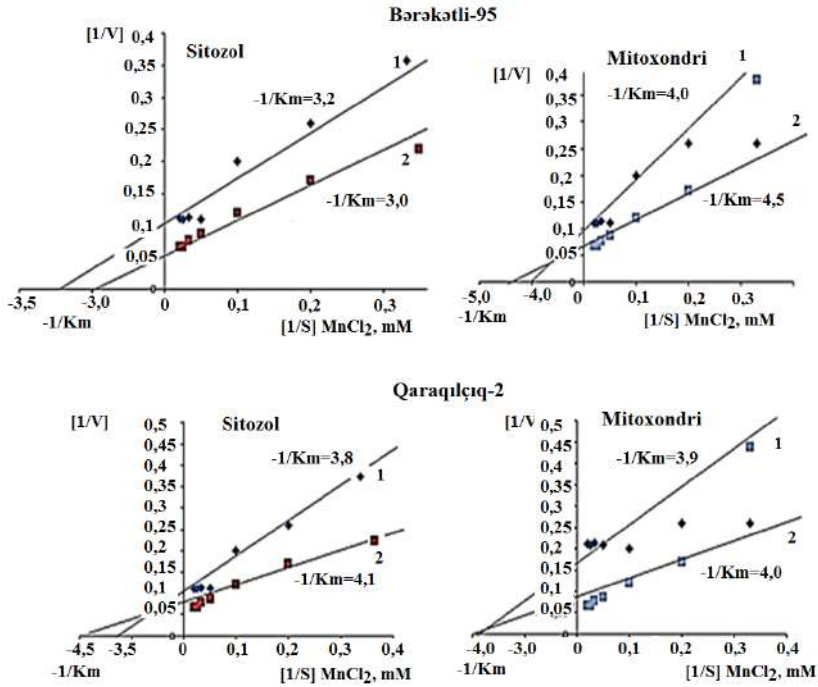
Tərəfimizdən Mn²⁺-ionlarının müxtəlif qatılıqlarının amarant yarpaqlarında NAD-ME fermentinin izoformalarının aktivliyinə təsiri də tədqiq edilmişdir. Şəkil 5.12-dən görüldüyü kimi NAD-ME fermentinə aktivləşdirici təsir göstərən MnCl₂-nin 1-50 mM qatılıqlarında kontrol və quraqlıq nümunələrində fərqli nəticələr alınmışdır. Belə ki, MnCl₂-nin 3 mM qatılığında stres variantında V_{max} kontrola nisbətən, təqribən iki dəfə artmışdır. K_m-in qiymətinin artması ilə uyğun olaraq V_{max} da artmışdır (şəkil 5.12, cədvəl 4.7).

Şəkil və cədvəldən görüldüyü kimi, MnCl₂-nin 0-50 mM qatılıqlarında reaksiyanın kinetik parametrlərinin analizi göstərir ki, aktivator, əsasən, ÖTH-nin mitoxondri fraksiyalarında NAD-ME aktivliyinə daha çox aktivləşdirici təsir göstərir. Bu fraksiyada fermentin V_{max}-1 4 EU/mq zülal olub, kontrollu müqayisədə təqribən 4,5 dəfə artmış olur (V_{max} (MnCl₂) 18,9 EU/mq zülal). Aktivatorun NAD-ME aktivliyinə təsirinin toxuma spesifikliyi və quraqlığın təsirindən fərqli mənzərə yaratması görünür ki, bitkinin metabolism xüsusiyyətləri ilə əlaqədardır. Reaksiyanın sürət qrafikində ən yüksək sürətlə xarakterizə olunan xətti sahə MnCl₂-nin 5 mM qatılığına uyğun gəlir.



Şəkil 5.12. Qaraqlıq şəraitində amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində aktivatorun ($MnCl_2$) yarpağın MH-nin sitozol, ÖTH-nin sitozol və mitoxondri-lərində NAD-ME fermentinə aktivləşdirici təsirinin kinetikası. 1-kontrol, 2-qaraqlıq

Alınan nəticələr göstərir ki, NAD-ME fermenti amarant yarpaqlarında MH-nin sitozol, ÖTH-nin isə sitozol və mitoxondri fraksiyalarında lokalizasiya olunmuşdur. NAD-ME buğda yarpaqlarında da MH-nin sitozol və mitoxondri fraksiyalarında lokalizasiya olunmuşdur. Şəkil 5.13-dən göründüyü kimi $MnCl_2$ -nin NAD-ME fermentinin aktivliyinə təsiri Bərəkətli-95 və Qaraqlıçiq-2 genotiplərində tədqiq olunmuşdur. Hər iki genotipin sitozol və mitoxondrilərində $MnCl_2$ -nin təsirindən fermentin aktivliyi təqribən iki dəfə artmışdır. Aktivləşmənin səviyyəsi Bərəkətli-95-də Qaraqlıçiq-2-yə nisbətən yüksək olmuşdur.

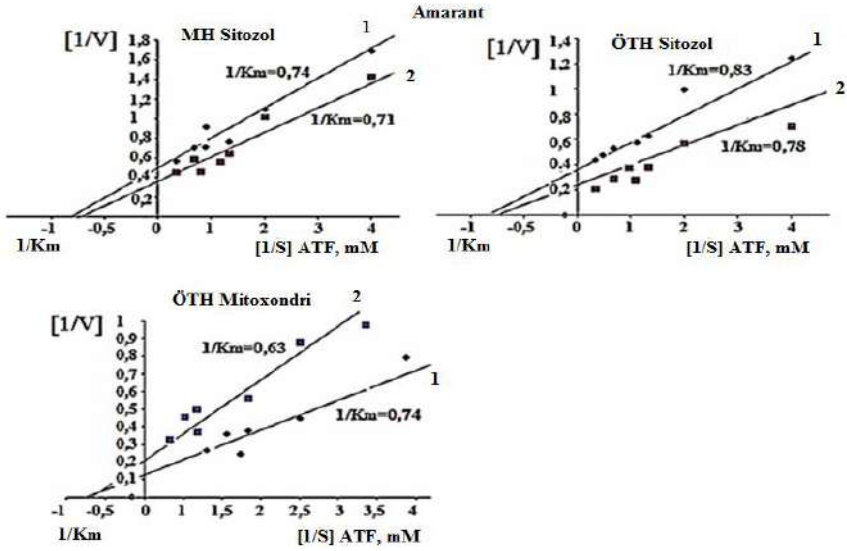


Şəkil 5.13. Torpaq quraqlığı zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpağın MH-nin sitozol və mitoxondri fraksiyalarında aktivatorun (MnCl_2) NAD-ME aktivliyinə təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2- quraqlıq

INHİBİTORUN (ATF) NAD-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

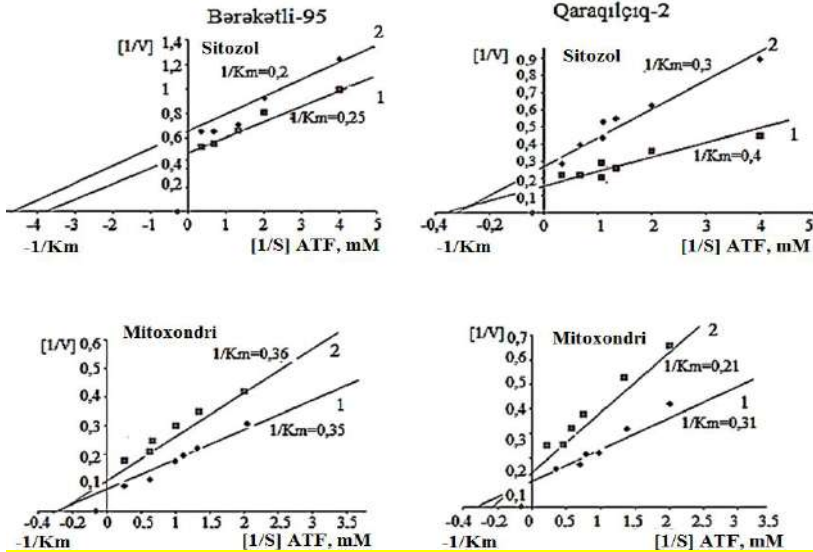
Amarant və buğda yarpaqlarında NAD-ME aktivliyinə ATF-in inhibirləşdirici təsirinin nəticələri 5.14, 5.15-ci şəkillərdə və 4.7-ci cədvəldə verilmişdir. ATF-in 0,1-3 mM qatılıqlarında reaksiyanın sürətinin kinetikasi tədqiq olunmuşdur. Məlum olmuşdur ki, ATF-in 2-3 mM qatılıqlarda fermentin aktivliyinə inhibirləşdirici təsiri daha yüksəkdir. Amarant və buğda genotiplərinin bütün fraksiyalarında ATF-in inhibirləşdirici təsirindən fermentin aktivliyində (V_{\max}) təqribən 0,5-2 dəfəyədək azalma baş vermişdir.

Bu günə qədər NAD-ME-nin amarant yarpaqlarının assimilyasiyaedici toxumaların sitozol fraksiyalarında lokalizasiyasına aid ədəbiyyat məlumatlarının çox az olmasına baxmayaraq, bizim təcrübələrdə MH və ÖTH-nin sitozol fraksiyalarında da NAD-ME aktivliyinin olduğu aşkar olunmuşdur. Ehtimal edilir ki, MH və ÖTH-nin sitozol fraksiyalarında müşahidə edilən aktivlik subhüceyrə fraksiyalarının təmizlənməsi zamanı baş verə biləcək çirklənmənin nəticəsi deyil. Çox güman ki, sitozolda NAD-ME izoformalarının mövcudluğu həmin fermentin bitki orqanizmində maddələr mübadiləsində qeyri-fotosintez funksiyaları həyata keçirməsi ilə əlaqədardır.



Şəkil 5.14. Quraqlıq zamanı amarant bitkisinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpağın MH və ÖTH-nin subhüceyrə fraksiyalarında inhibitorun (ATF) NAD-ME fermentinin aktivliyinə təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq

Şəkil 5.14 və 5.15-dən görüldüyü kimi buğda yarpaqlarında ATF-in NAD-ME aktivliyinə inhibirləşdirici təsiri kontrol və quraqlıq variantlarda amarant yarpaqlarında lokalizasiya olunan fermentə oxşar baş verir.

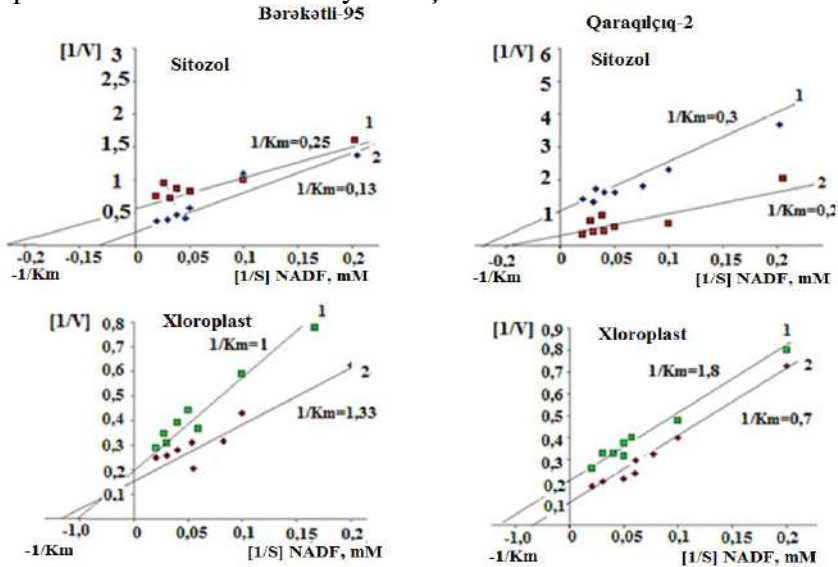


Şəkil 5.15. Torpaq quraqlığı şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqlarının MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında inhibitorun (ATF) NAD-ME aktivliyinə təsirinin kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq

NADF-MALİK ENZİM AKTİVLİYİNİN TƏNZİM OLUNMASI. KOFAKTORUN (NADF⁺) NADF-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Məlum olduğu kimi, buğda yarpaqlarının NADF-ME fermentləri NADF kofermenti ilə aktivləşir. Bu kofermentlərin fermentlərə aktivləşdirici təsiri çox güman ki, onun aktiv mərkəzində əlverişli konformasiya dəyişkənliyi yaratmaq və fermentlə substrat arasındakı yaxınlığı daha da optimallaşdırması ilə əlaqədardır.

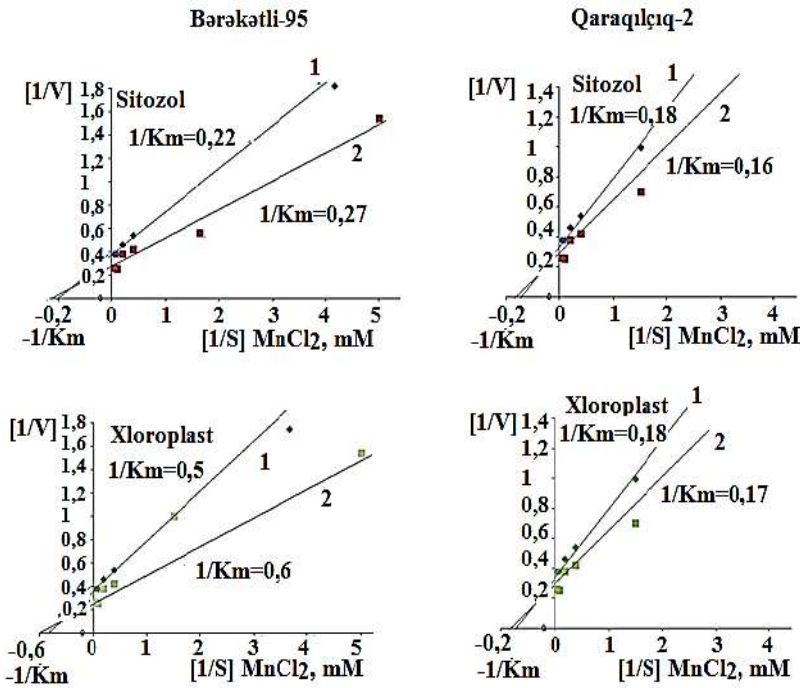
Aparığımız təcrübələr zamanı 1-20 mM NADF qatılıqlarında alınan nəticələr 4.11-ci cədvəl və 5.16-cı şəkildə qrafiki olaraq göstərilmişdir. Müəyyən olunmuşdur ki, kofaktorun buğda yarpaqlarında NADF-ME aktivliyinə təsiri zamanı istər sitozol, istərsə də xloroplast lokalizasiyalı ferment kontrol və quraqlıqda NADF-in 1-3 mM qatılıqlarında fermentə aktivləşdirici təsir göstərir. Bərəkətli-95 genotipinin xloroplast fraksiyasında görüldüyü kimi kontrolda K_m (NADF) 1 mM, V_{max} (NADF) 5 EU/mq zülal olduğu halda, quraqlığın təsirindən göstərici artaraq K_m (NADF) 0,75 mM, V_{max} (NADF) 6,67 EU/mq zülala bərabər olmuşdur. Qaraqılçiq-2 genotipində də buna oxşar nəticələr alınmışdır. Belə ki, bu genotipin xloroplast fraksiyasında kontrolda K_m (NADF) 0,56 mM, V_{max} (NADF) 5 EU/mq zülal, quraqlıqda isə K_m (NADF) 1,43 mM, V_{max} (NADF) 10 EU/mq zülala bərabər olmuşdur. Hər 2 genotipin sitozol fraksiyalarında da buna oxşar nəticələr alınmışdır. Alınan nəticələr onu deməyə əsas verir ki, NADF kofermenti fermentin fəal mərkəzinin fəzada əlverişli vəziyyət almasında və ferment-substrat qarşılıqlı təsirinin tez və sürətlə həyata keçirilməsində mühüm rola malikdir.



Şəkil 5.16. Torpaq quraqlığı zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH-nin sitozol və xloroplast fraksiyalarında kofaktorun (NADF) NADF-ME aktivliyinə təsirinin kinetikası. 1-kontrol, 2- quraqlıq

AKTİVATORUN ($MnCl_2$) NADF-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

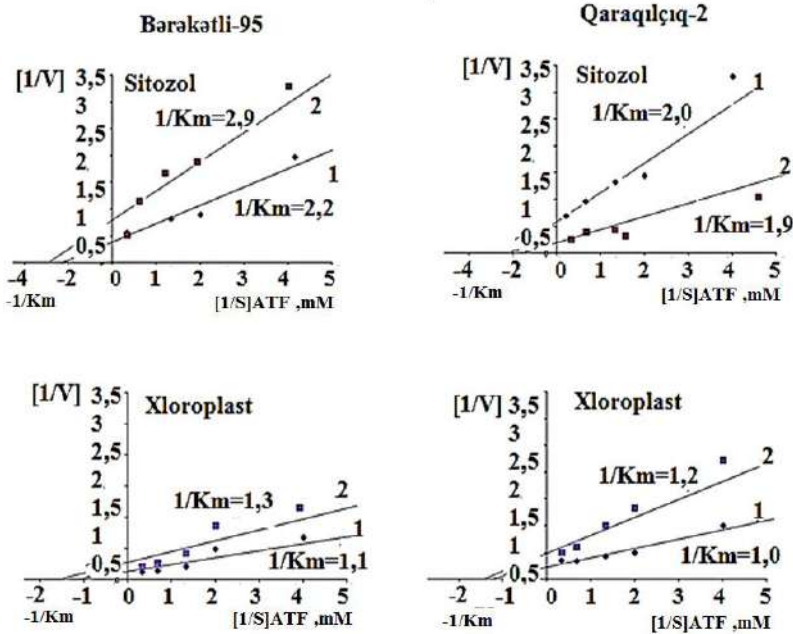
Buğda genotiplərində aktivləşdirici agentlərin NADF-ME aktivliyinə təsiri ilə əlaqədar olaraq, $MnCl_2$ aktivatorunun fermentin aktivliyinə təsiri tədqiq olunmuşdur. Müəyyən olunmuşdur ki, $MnCl_2$ 0,5-1 mM qatılıqlarında NADF-ME aktivliyinə optimal təsir edir. Reaksiyanın K_m və V_{max} -ın müqayisəsi zamanı məlum olur ki, hər bir fraksiyada K_m və V_{max} arasındakı münasibət oxşar olaraq dəyişir. K_m -in aşağı qiymətlərində ferment yüksək V_{max} -a və əksinə, K_m -in yuxarı qiymətlərində aşağı V_{max} -a malik olmuşdur. Alınan nəticənin əhəmiyyəti ondan ibarətdir ki, NADF-in optimal qatılığında K_m -in aşağı qiymətlərində, yəni ferment az substrat istifadə etməklə reaksiyanı sürətlə kataliz edə bilər. Substratın miqdarca çox xərclənməsi və aşağı V_{max} -a malik olması, quraqlığın təsirindən entropiyanın artması və bitki metabolizmində yaranan nizamsızlıq ilə əlaqədar olduğunu göstərir və belə bir şəraitdə orqanizm stresin təsirinə qarşı davamsız olur (şəkil 5.17, cədvəl 4.11).



Şəkil 5.17. Quraqlıq zamanı buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NADF-ME fermentinin aktivliyinə aktivatorun ($MnCl_2$) təsirinin kinetikası. 1-kontrol, 2-quraqlıq. Laynui-ver-Berkə görə

İNHİBİTORUN (ATF) NADF-ME AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Digər bitki mənşəli fermentlərdə olduğu kimi, ATF buğda yarpaqlarında da NAD-ME fermentinin aktivliyinə güclü inhibirləşdirici təsir göstərir. Bu təsirin öyrənilməsi məqsədilə apardığımız təcrübələrin nəticələri şəkil 5.18 və cədvəl 4.11-də verilmişdir. Göründüyü kimi ATF Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 buğda genotiplərinin MH-nin sitozol və xloroplast NADF-ME fermentinin aktivliyinə güclü inhibirləşdirici təsir göstərmişdir. ATF-in NADF-ME aktivliyinə inhibirləşdirici təsiri nəticəsində fermentin aktivliyi təqribən 2-4 dəfə azalmışdır ki, buna quraqlıq böyük təsir göstərmişdir. Şəkil 5.18-dən göründüyü kimi quraqlığadavamlılığından asılı olmayaraq, hər iki buğda genotipində ATF-in NADF-ME aktivliyinə inhibirləşdirici təsiri demək olar ki, oxşar baş vermişdir. Bu genotiplərdə xloroplast lokalizasiyalı ferment inhibitorun təsirinə qarşı daha həssas olmuşdur.



Şəkil 5.18. Quraqlıq şəraitində buğda genotiplərinin inkişafının çiçəkləmə mərhələsində yarpaqların MH-nin subhüceyrə fraksiyalarında NADF-ME fermentinin aktivliyinə inhibitorun (ATF) təsirinə kinetikasi. 1-kontrol, 2-quraqlıq

Beləliklə, yekunda qeyd edə bilərik ki, amarant və buğda yarpaqlarında malatdehidrogenazalar (MDH) geniş, malik enzimlər (ME) isə aşağı izoferment spektrinə malikdirlər ki, bu da onların subhüceyrə lokalizasiyası

və hüceyrədə yerinə yetirdikləri fizioloji funksiyalarla əlaqədar ola bilər. MDH-lər, əsasən, MH-də lokalizasiya olunduğuna görə stres və ağızciq amilinin təsirinə daha çox məruz qalırlar. Buna görə də onlar adaptasiyaedici xassələrini artırmaq üçün daha geniş izoforma müxtəlifliyinə malik olurlar və bu izoformalar lokalizasiya məkanına görə fərqlənirlər. ÖTH MH-yə nisbətən yarpaq toxumasının daha dərinliyində yerləşdiyinə və daha sərt hüceyrə qlafına malik olduğuna görə az izoforma müxtəlifliyinə və dəyişkənliyinə malik olurlar. Görünür, bu, həm də onların yerinə yetirdiyi fizioloji funksiyalarla əlaqədardır.

Beləliklə, aparılan tədqiqat işlərinin nəticələrinin yekunu göstərir ki, amarant və buğda yarpaqlarında tədqiq edilən fermentlər adaptiv xassələrə və yüksək növlərəarası müxtəlifliyə malikdirlər.

VI FƏSİL

BİTKİ METABOLİZMİNDƏ ARALIQ METABOLİTLƏRİN ROLU

QURAQLIĞIN BƏZİ İNTERMEDIATLARIN MİQDARINA TƏSİRİ

Bitkilər qaz mübadiləsi parametrləri, fermentlərin aktivliyi və sintez olunan intermediatlar səviyyəsində quraqlığın təsirinə cavab verirlər. Buna görə də, torpaq quraqlığının bitki orqanizmlərinə təsirinə tədqiqində prolin, MDA, malat və piruvat kimi aralıq birləşmələrin miqdarının dəyişmə dinamikası ilə karbon və malat metabolizmi fermentlərinin birgə kompleks tədqiqinin böyük elmi və praktik əhəmiyyəti vardır.

Məlumdur ki, C₄-bitkilərdə MH və ÖTH arasında baş verən integrativ metabolizmdə bu iki toxumanın işini koordinasiya edən əsas metabolitlərdən biri malatdır [Пине́йру и др., 1991]. Malat MDH və ME-nin köməyi ilə utilizasiya olunduğuna görə orqanizmlərə ətraf mühitin dəyişməsinə, tələbatına və fizioloji vəziyyətinə sıx nüfuz etmək imkanları verir. MDH sistemi fermentləri bitki hüceyrəsinin qlikolizdən, karbon skeleti mənbəyindən asılılığını azaltmaqla dəyişilmiş mühit şəraitində özünün tez mobilizasiya olunması üçün üzvi turşulardan ibarət ehtiyat fond formalaşdırır [Пине́йру и др., 1991].

Müəyyən olunmuşdur ki, pomidor meyvəsinin inkişafının ekstensiv mərhələsində malat potensial cəhətdən mühüm tənzimləyici metabolitdir. Alınan nəticələr göstərir ki, malat nəql olunan nişastanın metabolizminə güclü təsir göstərir. Hüceyrələrinin vakuollarında malatın miqdarı az olan bitkilərdə nişastanın toplanması artır, malatın miqdarının çoxluğuna uyğun olan bitkilərdə isə əksinə, nişastanın miqdarı azalır [Carrari et al., 2006].

Məlumdur ki, su stresi şəraitində C₄-bitkilərin yarpaqlarının MH və ÖTH-də kifayət qədər malat toplanır. Uzunmüddətli torpaq quraqlığı zamanı malatın miqdarı azalaraq, hətta, kontroldan da aşağı düşür. Su qıtlığı şəraitində kiçikmolekullu osmolitlərlə yanaşı, müxtəlif stres zülallarının, o cümlədən ionları və suyu saxlayan zülalların sintezi də aktivləşir. Bu zaman sintez olunan zülalların miqdarı, ümumi zülalın təqribən 12%-ni təşkil edir. Onlar vakuolda və tonoplastın vezikullarında lokalizasiya olunurlar. Quraqlıqadavamlılığın artırılmasına səbəb olan funksional zülallara müxtəlif hidrolazalar, proteazalar, proteazaların inhibitorları, osmolitlərin biosintezini həyata keçirən fermentlər, eyni zamanda su stresi zamanı genlərin ekspressiyasında və siqnal transduksiyasında iştirak edən tənzimləyici zülallar aid edilir.

Ali bitkilərdə hüceyrənin sitoplazması ilə vakuolu arasında osmotik tarazlığın saxlanılmasında osmolitlər və kalium ionlarının toplanması mühüm rol oynayır. Stres zamanı prolin, betain və polioll kimi törəmələrin miqdarının artması hüceyrənin osmotik təzyiqini [Kaфи, 2003] və NaCl-un zərərli təsirini azaltmaqla bitkilərin quraqlığadavamlılığını artırır [Delauney, Verma, 1993]. Osmotiklərin sintezinin intensivləşməsi bitki hüceyrələrində osmotik prosesləri yaxşılaşdırır [Shao et al., 2005; Errabi et al., 2006].

Tərəfimizdən aparılan tədqiqatlarda təcrübə bitkilərinin yarpaqlarında prolin və MDA-dan fərqli olaraq malatin miqdarının kontrola nisbətən azalması, uyğun olaraq 10, 20 və 80%-ə bərabərdir. Torpaq quraqlığının təsirinə pıruvatın miqdarı stresin təsirinə kontrola nisbətən sünbülləməni mərhələsində 3%, çiçəkləmə mərhələsində 15% artmış, toxumyetimə mərhələsində isə, əksinə, kontrolla müqayisədə 35% azalmışdır. Buğda və amarant yarpaqlarından alınan nəticələr homologiya təşkil edir. İntermediatların miqdarı əsasında tədqiq olunan bitki növlərini belə sıraya düzmək olar: amarant - Qaraqılçiq-2 - Bərəkətli-95. Bu o deməkdir ki, amarant bitkisi buğda genotiplərlə müqayisədə daha yüksək quraqlığadavamlılığa malikdir. Quraqlığadavamlılığına görə ikinci yerdə buğdanın Qaraqılçiq-2, sonuncu yerdə isə Bərəkətli-95 genotipi durur (cədvəl 6.1).

Prolin canlılar aləmində ən çox yayılan metabolitlərdən biridir. Bitki hüceyrəsində stres zamanı yaranan prolin aminturşu pulunun 5%-ni təşkil edir [Lehman et al., 2010]. Prolin hüceyrənin osmotik balansını, plazmatik membranın bütövlüyünü qorumaqla yanaşı [Mansour, 2000], karbon və azot mənbəyi [İbraqimova et al., 2012] və aktiv oksigen radikalı “dəfedicisi” kimi, bir çox fizioloji funksiyaları da həyata keçirir [Hong et al., 2000; Krishnan et al., 2008]. Müəyyən olunmuşdur ki, ali bitkilərdə, yosunlarda, göbələklərdə və bakteriyalarda stresin təsirinə toplanan prolin, digər aminturşular, poliaminlər, fruktanlar və s. kimi aralıq metabolitlər bir-birinə oxşarırlar. Ədəbiyyat məlumatlarında su stressi şəraitində bitkilərdə prolinin biosintezində və toplanmasında iştirak edən fermentlərlə su stressinə qarşı tolerantlıq arasında müsbət korrelyasiyanın olduğu göstərilmişdir [Theriappan et al., 2011].

Son ədəbiyyat məlumatlarında prolinin sintezinin xloroplastlarda baş verdiyi göstərilmişdir. Məlum olmuşdur ki, prolinin biosintezi NADF⁺-in regenerasiyası və müvafiq NADF/NADFH nisbətinin saxlanmasına xidmət edir [Székely et al., 2008; Reiland et al., 2009; Hare et al., 2002; Szabados, Savouré, 2010; Verslues, Sharma, 2010]. Müəyyən olunmuşdur ki, su potensialı aşağı olduqda prolin daha çox, duz və soyuq streslərinin təsiri zamanı isə aşağı səviyyədə toplanır [Kaplan et al., 2007; Sharma, Verslues, 2010]. Ekofizioloji tədqiqatlar da prolinin quraqlığa qarşı adaptasiyada müəyyən rola malik olduğunu göstərmişdir [Ben Hassine et al., 2008; Parida et al., 2008; Evers et al., 2010].

Ekstremal şəraitdə reduksiyaya meyilli olan prolinin metabolizminin NADF/NADFH-yə spesifik təsiri xloroplastda prolin metabolizmi ilə redoks tənzim arasında əlaqə olduğunu göstərir [Dietz, Pfannschmidt, 2011]. Bu onu deməyə əsas verir ki, NADF/NADFH nisbəti yalnız fotosintetik elektron nəqli üçün deyil, reaktiv oksigen radikallarının yaranması və NADFH oksidazalar və NADFH-dan asılı bir çox fermentlərin aktivliyi və siqnalların NO ilə ötürülməsi üçün də vacibdir [Zhang et al., 2009; Takahara et al., 2010; Dietz, Pfannschmidt, 2011]. Prolin metabolizmi vasitəsilə NADF/NADFH nisbətində nəzarət edilməsi, digər metabolik və siqnal yollarına təsir göstərə bilməsi nöqtəyi-nəzərindən müəyyən rola malik olan oksidləşdirici pentoza fosfat yollarının əlaqəli araşdırılmasına ehtiyac vardır [Verslues, Sharma, 2010; Dietz, Pfannschmidt, 2011; Yang et al., 2009; Krishnan et al., 2008].

Sharma və b. [Sharma et al., 2011] göstərmişlər ki, su potensialının aşağı səviyyəsinin törətdiyi fundamental tarazlığın pozulmasının qarşısının alınmasında prolinin metabolizminin və nəqlinin xüsusi rolu vardır. Belə ki, quraqlıq stresinin təsirindən fotosintez toxumalarında ifrat miqdarda reduksiyaedici NADFH olur və CO₂-nin udulmasının və gövdənin inkişafının zəiflədiyi şəraitdə reduksiyaedici istifadə effektivliyi aşağı düşür. Kökün isə, əksinə, böyüməsi davam edir, həllolan maddələrin toplanması və hüceyrə divarı metabolizminə kömək etmək üçün enerjiyə tələbat artır [Skirycz et al., 2010]. Müəyyən olunmuşdur ki, su potensialının səviyyəsinin aşağı olması, digər şəkər və aminturşularla müqayisədə prolinin nəqlini daha da effektiv edir. Prolinin unikal katabolik rolu və yüksək enerji tutumu [Mattioli et al., 2009], həmçinin gövdədəki saxaroza ehtiyatının azalması [Boyer, 2010] aşağı su potensialı səviyyəsində normal tənəffüs üçün prolini əlverişli substrat edir [Verslues, Sharma, 2010].

Hoque və əməkdaşlarının [Hoque et al., 2007] aldığı nəticələr göstərir ki, duz stresinin katalaza və askorbat peroksidaza fermentlərinin aktivliyinə göstərdiyi zərərli təsiri prolinin qlisin-betainə nisbətən daha çox azaldır və sərbəst oksigen radikallarını zərərsizləşdirə bilir [Okuma et al., 2004; Радюкина и др., 2008; 2011]. Müəyyən olunmuşdur ki, stresin təsiretmə müddətindən və başqa amillərdən asılı olmayaraq, daha çox endogen prolin toplayan bitkilərdə MDA qatılığı əsasında hesablanmış oksidləşdirici zədələnmə daha az olur. Buna uyğun olaraq, stressə məruz qalan bitkilərdə prolinin ekzogen verilməsi nəticəsində MDA qatılığının artımı əhəmiyyətli dərəcədə azalır. Stres şəraitində NAD(F)⁺/NAD(F)H nisbətində normal şəraitdəki göstəricilərə uyğun saxlanması prolinin həmin rola vasitəçilik etdiyini sübut edir [Krishnan et al., 2008]. Alınan nəticələr göstərir ki, NADF⁺ ehtiyatını toplamaqla redoks potensialın yerdəyişməsinə asanlaşdıran prolin, stressə məruz qalan hüceyrələrin müdafiə mexanizmlərində mühüm rol oynayır.

Bitkinin C, N və enerjiyə olan tələbatının bir hissəsi stresdən sonra prolinin parçalanması hesabına ödənməmiş olur [Hare et al., 2002].

Apardığımız tədqiqatlarda bitki orqanlarında prolinin miqdarı Bates üsulu ilə [Bates et al., 1973] təyin olunmuşdur.

Ədəbiyyat məlumatlarında göstərilir ki, hüceyrədə prolinin miqdarının artması ilə bitkinin şoranlıq və su qıtlığı şəraitinə dözümlülük imkanları arasında müsbət korrelyasiya vardır [Chaves, Oliveria, 2004]. Torpaq quraqlığında sintez olunan prolin, həmçinin reparasiya zamanı üzvi azot mənbəyi rolunu oynaya bilər. Belə qənaətə gəlinmişdir ki, alaninin və prolinin bitki hüceyrələrində sərbəst şəkildə toplanması yarpaqların su sərfinin azaldılmasına xidmət edir [Кафи, 2003].

Cədvəl 6.1

Quraqlığın amarant və buğda bitkilərinin yarpaqlarında intermediatların miqdarına təsiri

Vegetasiyanın mərhələləri	Prolin, (mg/ml)		MDA·10 ⁵ , (mmol/q)		Malat, (nq/q sm)		Piruvat, (mkq/q sm)	
	K	Q	K	Q	K	Q	K	Q
<i>Amarantus cruentus</i>								
Sümbülləməni	15,6	16,2	0,20	0,21	7,56	6,89	8,9	9,2
Çiçəkləmə	20,4	35,2	0,34	0,81	6,25	5,26	9,5	10,9
Toxumyetişmə	28,4	55,2	0,38	0,75	6,63	3,69	8,66	6,42
<i>Bərəkətli-95</i>								
Boruyaçıxma	12,5	-	0,09	-	0,18	-	2,57	-
Çiçəkləmə	26,0	27,5	0,26	0,18	0,22	0,16	2,38	1,59
Mumlyetişmə	40,0	41,5	0,08	0,1	0,21	0,18	1,56	1,38
<i>Qaraqulçiq-2</i>								
Boruyaçıxma	14,0	-	0,09	-	0,39	-	2,18	-
Çiçəkləmə	24,3	19	0,18	0,22	0,99	0,83	1,75	2,12
Mumlyetişmə	70	62,0	0,076	0,149	0,38	0,14	0,93	0,90

Cədvəl 6.1-dən görüldüyü kimi, bitkinin inkişafının sümbülləməni mərhələsində intermediatların miqdarında kontrol və quraqlıq nümunələrində ciddi dəyişənliklər baş verməmişdir. Bitkinin inkişafının çiçəkləmə və toxumyetişmə mərhələlərindən başlayaraq, aralıq metabolitlərin miqdarı artmağa başlamışdır. Amarantın inkişafının sümbülləməni mərhələsində quraqlıq variantlarında prolinin miqdarı kontrola nisbətən təqribən 10%, çiçəkləmə mərhələsində 70%, toxumyetişmə mərhələsində isə təqribən 90% artmışdır. MDA-nın miqdarı isə, uyğun olaraq təqribən 5, 140 və 100%-ə bərabər olmuşdur.

Müəyyən olunmuşdur ki, model bitki kimi istifadə olunan *Arabidopsis thaliana* bitkisinə su potensialı ən az olduqda duz və soyuq stresindən fərqli olaraq prolin daha çox toplanır [Kaplan et al., 2007; Verslues, Sharma, 2010; Sharma et al., [2011. Ekofizioloji tədqiqatlara əsasən də prolinin quraqlığa qarşı adaptasiyada müəyyən rola malik olduğu qeyd edilmişdir [Ben Hassine et al., 2008; Parida et al., 2008; Evers et al., 2010]. Ontogenezin ayrı-ayrı mərhələlərində quraqlığadavamlı və quraqlığa davamsız genotipləri müqayisə etdikdə görürük ki, vegetasiyanın sonuna yaxınlaşdıqca sintez olunan prolinin miqdarı təqribən 2-3 dəfə artmışdır. Belə bir artım MDA-nın miqdarında da müşahidə olunmuşdur.

MDA bitkilərin stresə davamlılığını xarakterizə edən əsas göstəricilərdən biridir. Müəyyən olunmuşdur ki, müxtəlif stres amillərinin təsiri bitkilərdə peroksid oksidləşməsinin (LPO) son məhsulu olan MDA-nın hüceyrədə toplanması ilə nəticələnir [Shao et al., 2005; Tatar, Gevrek, 2008; Ashraf et al., 2010].

Məlumdur ki, stres amillərinin təsiri nəticəsində bitki hüceyrələrinin membranlarının tamlığını pozan və sərbəst radikallarla induksiya olunan LPO sürətlənir, MDA-nın toplanması nəticəsində bir çox biokimyəvi proseslər inhibirlənir. MDA hüceyrənin tamlığını və funksional vəziyyətini stres və adi fizioloji vəziyyətlərdə həmin toxumalarda toplanan tiobarbitur turşusunu və hidrogen peroksidi zərərsizləşdirməklə mühafizə edir [Ashraf et al., 2010].

Buğda genotiplərinin inkişaf mərhələlərindən və quraqlığadavamlılığından asılı olaraq kontrol və təcrübə bitkilərində MDA-nın miqdarı quraqlığadavamlı Bərəkətli-95 genotipində quraqlıqlığadavamsız Quraqlıçiq-2 genotipi ilə müqayisədə daha çox artmışdır. Alınan nəticə Bərəkətli-95 genotipinin stresin təsirindən daha az modifikasiyaya uğradığını göstərir. Torpaq quraqlığının təsirinə məruz qalmış amarant yarpaqlarında MDA-nın miqdarının bitkinin inkişaf mərhələlərindən asılı olaraq artması, buğda genotiplərində isə bunun əksinə olaraq, tədricən azalmasında baş verən fərqlər, bu bitkilərin stresə cavab reaksiyalarının müxtəlif olmasını göstərir (cədvəl 6.1).

MDA-nın miqdarı LPO məhsulu olan MDA-nın miqdarına əsasən, təyin edilmişdir [Hodges et al., 1999]. Bitki toxumalarında MDA-nın miqdarı tiobarbitur turşusu (TBT) ilə reaksiya məhsulunun toplanma dərəcəsindən asılıdır.

MDA və prolinlə bərabər tədqiq olunan bitkilərdə stresin təsirindən üçkarbonlu α -ketoturşu olan piruvatın da miqdarının dəyişmə dinamikası öyrənilmişdir. Piruvat qlikolizin aralıq məhsulu olmaqla, enerjiyararlanma proseslərində istifadə olunur. O, üzvi dikarbon turşusu olan malatla birlikdə hüceyrələrin membranlarından asanlıqla keçərək yağ turşularının sintezində iştirak edir.

Stres şəraitində FEPK, SOD və peroksidaza fermentlərinin aktivliyi artır. Absis turşusunun toplanması ağızcıqların bağlanması səbəb olur, prolinin miqdarının artması hüceyrədə membranın tamlığını təmin edir. Ağızcıq hüceyrələrində yüksək osmotik təzyiq FEP-in karboksilləşməsi hesabına yaranan malat və kaliumla xlorun aktiv nəqli hesabına qorunur. Susuzlaşma nəticəsində hüceyrədə turqor təzyiqi aşağı düşür.

Piruvat bitki metabolizmində mərkəzi metabolitlərdən biri olub, anaerob katabolizm nəticəsində qlükozadan əmələ gələrək iki yolla enerjiyə çevrilir. Birinci yolda asetil-KoA-ya çevrilərək, Krebs dövrəsinə qoşulur. İkinci yolda isə piruvat anaerob reaksiya nəticəsində Krebs dövrəsinin intermediatlarından biri olan oksalasetata çevrilir. Əmələ gələn OA qlükoneogenez yolu ilə qlükozanın sintezinə sərf olunur [Lehninger et al., 2008]. Piruvat, həmçinin alanin amin turşusunun, asetat aldehidinin və etanolun sintezində də substrat olaraq iştirak edir. Digər bir reaksiya nəticəsində piruvat laktatdehidrogenazın (LDH) və NADH-nin iştirakı ilə süd turşusuna çevrilir.

Piruvat katabolizmin ikinci ümumi yolu ilə Krebs dövrəsinə qoşulur. Qlikolizdə piruvatkinaza fermentinin katalizatorluğu ilə FEP piruvata, dönər reaksiya zamanı piruvatkarboksilaza və FEP-KK fermentlərinin katalizatorluğu ilə FEP-ə çevrilir. Yekunda piruvatın dekarboksilləşməsi nəticəsində asetil-KoA, reduksiyası nəticəsində süd turşusu, karboksilləşməsi nəticəsində OA, transaminləşməsi nəticəsində isə alanin amin turşusu əmələ gəlir [Lehninger et al., 2008]. C₄-bitkilərin ÖTH-də C₄-turşuların dekarboksilləşməsi nəticəsində yaranan piruvat MH diffuziya edir və MH xloroplastlarında piridoksalfosfatdekarboksilaza (PFDK) fermentinin iştirakı ilə bikarbonat ionlarının (HCO₃⁻) ilkin akseptoru olan FEP-ə çevrilir.

Malatın və piruvatın miqdarının təyini üçün hidrazin-qlisin buferi, pH- 9,5; 0,01 M NAD⁺ və analitik təmiz MDH fermentindən istifadə olunmuşdur [Детлаф, 1974].

VII FƏSİL

H⁺-NASOSLARI VƏ BUĞDA GENOTİPLƏRİNİN DUZADAVAMLILIĞI

Respublika ərazisinin böyük bir hissəsi quraq və şoran torpaqlardan ibarət olduğuna görə həmin ərazilərdə mədəni bitkilərin əkilib becərilməsi ciddi çətinliklərlə üzləşir [Məmmədov, 2007; Əzizov, 2002]. Quraqlığın təsirinə mədəni bitkilərdə normal su təminatına baxmayaraq, məhsuldarlıq təxminən 35-50% azalır (Boyer, 1982). Su stresi bitkilərdə metabolizmi dəyişdirərək fotosintezi və inkişafı zəiflətməklə, ekosistemə, kənd təsərrüfatına və insan cəmiyyətinə böyük təsir göstərir. Su stresi fotosintezə birbaşa, yəni bitki metabolizmini dəyişməklə, yaxud dolay yolla – fiksasiya üçün lazım olan CO₂-nin miqdarını məhdudlaşdırmaqla təsir edə bilər. Qeyd olunan effekt yüksək duz qatılıqlarının bitki orqanizminə təsiri nəticəsində də yarana bilər. Bitkilərin hər iki stresin təsirinə məruz qalması öncə yeraltı orqan olan kök vasitəsi ilə başlayır.

Ali bitkilərdə duz stresinin yarpaq və kök hüceyrələrində CO₂-nin metabolizmində iştirak edən fermentlərin və kök hüceyrələrində H⁺-nasosların aktivliyinə təsirinin öyrənilməsinin böyük elmi və praktik əhəmiyyəti vardır. Məhz bu nöqteyi-nəzərdən tədqiqatlarımızın xüsusi bir bölməsi bitkilərin duzadavamlılığının analizi üçün yeni yanaşma üsullarının öyrənilməsinə və tətbiqinə həsr olunmuşdur. Biz, cücrəmənin 7-ci günündə mühitin maksimal turşulaşmasını yaradan buğda genotipləri təmsalında duz stresinin təsirinə sonra H⁺-nasoslarının işinin bərpa olunmasını öyrənməyə çalışdıq. Duz stresi yaratmaq üçün əsas təcrübə məhluluna (1 mM KCl + 0,1 mM CaSO₄) 250 mM NaCl əlavə edilmişdir.

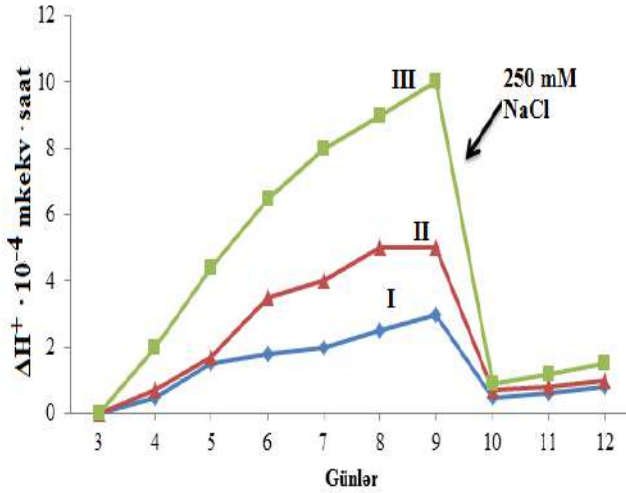
Müəyyən olunmuşdur ki, Bərəkətli-95 genotipi şoranlığa qarşı orta davamlılıq göstərmişdir. Onun H⁺-nasosları I bioqrupdan başqa bütün bioqruplarda öz işini bərpa edə bilməmişlər (şəkil 7.1). Qeyd etmək lazımdır ki, IV və V bioqruplarda bu, daha effektiv baş vermişdir. Bu bioqruplarda məhsuldarlıq II bioqrupdan az olsa da, duzadavamlılıq çox olmuşdur.

Buğdanın Qaraqılçiq-2 genotipi praktiki olaraq duza davamsız olmuşdur. Bu genotipin kök sisteminin H⁺-nasosu iki gün ərzində H⁺-ionlarının xaricə axınını bərpa edə bilməmişdir. Bu dövr ərzində bitkinin məhv olması müşahidə edilməsə də, H⁺-nasoslarının işinin inhibirləşməsi genotipin şoranlığa qarşı zəif davamlılığını göstərən simptomatik əlamət hesab oluna bilər (şəkil 7.1).

Öyrənilən digər genotiplərdən fərqli olaraq, aşağı məhsuldar Qırmızı buğda genotipi ən yüksək duzadavamlılıq göstərmişdir. Onun H⁺-nasosları

1-ci gün protonların aktiv xaric edilməsini Bərəkətli-95 genotipinə nisbətən daha sürətlə bərpa etmişdir. H^+ -nasoslarının effektivliyinə görə, III və V bioqruplarda yüksək, II bioqrupda orta, I bioqrupda isə zəif duzadavamlılıq müşahidə edilmişdir (şəkil 7.1).

Şoranlıq şəraitinin imitasiyası üçün təcrübə məhluluna 250 mM NaCl əlavə olunduqdan sonra H^+ -nasosları aşağı məhsuldar Qırmızı buğda genotipində effektiv şəkildə bərpa olunmuşdur. İkinci yerdə məhsuldar Bərəkətli-95, sonuncu yerdə isə Qaraqılçiq-2 genotipi durur.



Şəkil 7.1. Bərəkətli-95, Qaraqılçiq-2 və Qırmızı buğda genotipinin cücərtilərinin kök sistemində normal və süni duzlaşma şəraitində H^+ -ayrılmasının dəyişmə kinetikası. Cücərtilər 8 gün 1 mM KCl + 0,1 mM CaSO₄ məhlulunda böyümüş, sonra duzlaşmış mühitə keçirilmişdir (250 mM NaCl əlavə olunur). Şərti işarələr: ◆ Bərəkətli-95 (I), ▲ Qaraqılçiq-2 (II), ■ Qırmızı buğda (III)

Beləliklə, buğda köklərinin nəqliyyat sistemindəki H^+ -nasoslarının işinin qiymətləndirilməsi bu funksional göstəricini müxtəlif genotiplərin məhsuldarlıq və davamlılığının müqayisəsi üçün istifadə etməyə imkan verir.

Hazırda H^+ -nasoslarının proton hərəkətverici qüvvəsinin mineral qidalanma elementlərinin udulması və böyümə prosesini təmin edən əsas mexanizm olması haqqında hipotez irəli sürülmüşdür. Proton hərəkətverici qüvvənin ən mütəhərrik komponenti K^+ kationları ilə induksiya olunan pH-qradiyentidir.

Son dövrlərdə aparılan tədqiqatlar göstərmişdir ki, H^+ -nasoslarının fəaliyyəti bitkinin potensial məhsuldarlığının funksional göstəricisi kimi istifadə oluna bilər.

H^+ -nasoslarının aktivliyinin endospermin ölçülərindən asılı olmadığı aşkar edilmişdir. Belə ki, az məhsuldar olan Qırmızı buğda genotipində toxumun ölçüsünün ən böyük – 60 mq, məhsuldar genotiplərdə isə xeyli kiçik olduğu aşkar edilmişdir. Lakin bu genotiplərin II və V bioqruplarına aid olan toxumlar bütün toxum populyasiyası arasında daha yüksək çəkiyə malik olub, uyğun olaraq 47 və 43 mq təşkil edir.

Beləliklə, duzun qatılığını H^+ -nasoslarının aktivliyi əsasında ayrı-ayrı bioqrupların duzadavamlılıq dərəcəsini qiymətləndirmək mümkündür. Genotip populyasiyası həddlərində müxtəlif bioqrupların diferensial davamlılığı toxumçuluqda seleksiya əlaməti kimi istifadə oluna bilər. Beləliklə, apardığımız tədqiqatlar aşağıdakı nəticələri çıxarmağa imkan verir: 1. Toxum rüşeymlərinin morfofizioloji tipinə görə payızlıq buğdanın potensial məhsuldarlığının qiymətləndirilməsi göstərdi ki, daha məhsuldar genotiplərdə II və V bioqruplar, az məhsuldar genotiplərdə isə I bioqrup üstünlük təşkil edir. 2. Toxumların genotip populyasiyası həddlərində müxtəlif məhsuldarlığı olan bioqrupların energetik qiymətləndirilməsi maksimal H^+ -qradientini və H^+ -ionunun xaricə aktiv axınının sürətini təyin etməyə imkan verdi. Bu zaman müəyyən edilmişdir ki, ən məhsuldar olan II bioqrupdan başqa, Azərbaycan seleksiyasının buğda genotiplərinin IV və V bioqrupları da böyük töhfə verirlər. 3. Şoranlığın imitasiyası zamanı H^+ -nasoslarının fəaliyyətinin bərpa edilməsi Qırmızı buğda və Bərəkətli-95 genotipləri üçün xarakterikdir. Genotiplərin davamlılığı IV və V bioqruplar hesabına təmin edilir. Beləliklə, buğdanın kök sisteminin nəqliyyat aparatında olan H^+ -nasoslarının işinin qiymətləndirilməsi, funksional göstəricinin müxtəlif genotiplərin məhsuldarlıq və davamlılığının müqayisəsi üçün istifadə etməyə imkan verir.

DUZ STRESİNİN BUĞDANIN YARPAQ VƏ KÖKLƏRİNDƏ KA, NAD-MDH, RBFK və H^+ -NASOSLARININ AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Müasir dövrdə əkin torpaqlarının əsas problemlərindən biri, onların şoranlaşmasıdır. Torpaqda duzların miqdarının müxtəlif səbəblərdən artması nəticəsində ionlar bitki hüceyrəsinə daxil olaraq metabolik funksiyaların biokimyəvi mexanizmlərinə təsir etməklə, kənd təsərrüfatı bitkilərinin məhsuldarlığının azalmasına səbəb olurlar [Rampinio et al., 2006].

Uzunmüddətli torpaq quraqlığının və şoranlığın təsirinə məruz qalan bitkilərin ilk orqanı kök sistemləri olduğu kimi, quraqlığın təsirindən məhv

olan sonuncu orqan da məhz kök sistemləridir. Bitkilərdə stresə qarşı adaptiv reaksiyaların yaranmasında karbon və malat metabolizmi fermentlərinin rolu böyükdür. Stres zamanı köklərdə və yarpaqlarda KA və NAD-MDH fermentlərinin aktivliyinin artması çox güman ki, ağızcıqların bağlanması nəticəsində yarpaqlarda karboksilləşmə mərkəzlərində CO₂-nin qatılığının azalmasına səbəb olur. Güman etmək olar ki, kök hüceyrələrinin tənəffüsü zamanı ayrılan CO₂ KA-nın iştirakilə bikarbonat (HCO³⁻) ionlarına çevrildikdən sonra fotosintezin normal gedişini təmin etmək üçün yerüstü orqanlara nəql olunur.

Fikrimizcə, köklərdə lokalizasiya olunan KA kök hüceyrələrinin tənəffüsü zamanı əmələ gələn CO₂-nin utilizasiyasında iştirak edir. KA-nın hidratasiyası reaksiyasının məhsullarından biri olan H⁺-ionları H⁺-nasosları vasitəsi ilə kökətrafi mühitə verilir. Müxtəlif bitkilərdə H⁺-nasosları müxtəlif aktivliyə malik olduğu üçün kökətrafi mühitin turşuluq göstəricilərinə görə bitkilər bir-birindən fərqlənirlər ki, bu da sonda onların mineral qidalanma səviyyəsinin dəyişməsində özünü göstərir.

Bu məqsədlə şoranlığın təsirinə məruz qalmış buğda genotiplərinin yarpaqlarında karbonun fotosintetik metabolizmində iştirak edən NAD-MDH, KA və RBFK fermentlərinin aktivliyi tədqiq olunmuşdur (cədvəl 7.1). Cədvəldən görüldüyü kimi, NaCl-un 10-200 mM qatılıqlarında protonların ayrılma sürəti (ΔV_{H^+}), yarpaqların inkişaf sürəti (ΔV_y), xlorofilin və zülalın miqdarı, KA, RBFK və NAD-MDH aktivlikləri də artır. Quraqlığadavamlı, amma yüksəkməhsuldar genotip olan Bərəkətli-95-də bu mənzərə yaxşı, quraqlığadavamlı, aşağıməhsuldar Qırmızı buğda genotipində isə zəif nəzərə çarpır. Bunlardan fərqli olaraq quraqlığa davamsız, yüksəkməhsuldar Qaraqılçiq-2 genotipində ciddi nəzərəçarpacaq dəyişkənlik baş verməmişdir.

Müəyyən olunmuşdur ki, NaCl-un 200-300 mM qatılıqlarında protonların ayrılma sürəti (ΔV_{H^+}), yarpaqların inkişaf sürəti (ΔV_y), xlorofilin və zülalın miqdarı dəyişmir, KA, RBFK aktivliyi azalır, NAD-MDH aktivliyi isə kontrola nisbətən ~8-10 dəfə artır. NAD-MDH-nin aktivliyi isə NaCl-un, hətta, 300 mM qatılığında da müəyyən qədər artmışdır. Müşahidə olunan bu göstəricilər hər üç buğda genotipində oxşar baş versə də, Qırmızı buğda genotipində daha aydın nəzərə çarpmışdır.

Quraqlığın və yüksək duz qatılığının təsirindən (200-300 mM NaCl) buğdanın yarpaq və sünbül elementlərində KA aktivliyinin azalması, sonra getdikcə itməsi, kök sisteminin hüceyrələrində isə bu fermentlə H⁺-nasoslarının aktivliyinin vegetasiyanın sonuna qədər dəyişməz qalması, onu deməyə əsas verir ki, H⁺-nasosları ilə kök hüceyrələrində lokalizasiya olunan KA fermenti uzlaşmış fəaliyyət göstərməklə, ali bitkilərin stresə qarşı davamlılığının yaranmasında mühüm rol oynayırlar.

NaCl-un müxtəlif qatılıqlarının buğda yarpaqlarında və köklərində KA, RBFK, NAD-MDH və H⁺-nasoslarının aktivliklərinə təsiri

Genotip	NaCl-un qatılığı (mM)									
	Ferment	Orqan	K	10	100	150	200	250	300	
Bərəkətli-95	KA	yarpaq	1,7	1,4	1,78	1,84	2,8	2,75	1,11	
		kök	1,8	1,6	1,65	1,65	2,5	2,53	1,0	
	RBFK	yarpaq	2,6	2,8	3,16	4,16	5,1	1,39	0,91	
		kök	1,9	2,0	3,1	3,9	4,2	0,99	0,001	
	NAD-MDH	yarpaq	13,6	19,7	25,6	28,2	34,8	46,3	46,2	
		kök	4,1	7,0	19,0	18,3	21,1	34,0	42,0	
	$\Delta H \cdot 10^{-4}$ ekv	kök	0,2	0,14	0,31	0,98	0,8	0,16	0,01	
	Qaraqılçiq-2	KA	yarpaq	1,3	1,69	1,72	1,8	1,9	1,9	0,5
			kök	0,7	1,2	1,65	1,65	1,65	1,11	0,4
		RBFK	yarpaq	1,9	2,85	2,93	3,8		3,2	1,09
kök			1,9	2,0	2,5	3,5	4,5	3,01	0,6	
NAD-MDH		yarpaq	13,2	23,1	28,9	30,5		43,9	44,0	
		kök	6,9	10,8	21,3	22,0	26,6	37,1	41,0	
$\Delta H \cdot 10^{-4}$ ekv		kök	0,2	0,23	0,47	0,92	0,49	0,12	0,01	
Qırmızı buğda		KA	yarpaq	1,9	1,9	2,2	2,5	3,0	1,9	1,0
			kök	1,8	2,1	2,5	3,0	3,0	1,43	0,6
		RBFK	yarpaq	3,2	3,2	3,44	6,3		2,1	1,2
	kök		1,2	2,4	3,1	4,9	5,7	2,0	0,6	
	NAD-MDH	yarpaq	9,2	14,2	25,7	29,3		45,9	50,0	
		kök	4,3	9,8	18,9	23,3	28,4	40,0	40,2	
	$\Delta H \cdot 10^{-4}$ ekv	kök	0,3	0,24	0,49	0,88	0,51	0,15	0,01	

Qeyd: *Bərəkətli-95, Qaraqılçiq-2, Qırmızı buğda genotiplərində, uyğun olaraq, II, V və II bioqrupun cücartilərindən istifadə olunmuşdur.*

Belə ki, stres amilinin təsirindən KA öz aktivliyini itirməyərək kök hüceyrələrinin tənəffüsü zamanı əmələ gələn CO₂-nin utilizasiyasında iştirak edir. KA-nın kataliz etdiyi reaksiyanın ikinci məhsulu olan H⁺-ionları H⁺-nasosları vasitəsilə ətraf mühitə verilməklə, kök sistemi hüceyrələrinin ion mübadiləsinin normal gedişinin təmin olunmasında iştirak edir.

Müəyyən mənada qeyd etmək olar ki, bitkilərin məhsuldarlığının artırılması yüksək enerji tələb edən fizioloji funksiyaların yerüstü və yeraltı orqanların harmonik işinin səviyyəsindən asılıdır. Bu nöqteyi-nəzərdən, fikrimizcə, kök sisteminin H⁺-nasoslarının fəaliyyəti ilə karbon metabolizmində iştirak

edən fermentlərin aktivliyi arasında müsbət korrelyasiya olmalıdır. Buna görə də kənd təsərrüfatı biotexnologiyası istiqamətində bitkilərin məhsuldarlığının H^+ -nasosların aktivliyi ilə əlaqədar müqayisəli tədqiqatlar aparılmaqdadır. Membranlarda yerləşən və protonların aktiv ayrılması funksiyasını yerinə yetirən nəqliyyat ATFazaları, yaxud redoks nasoslar H^+ -elektrokimyəvi qradiyent, yaxud protonu hərəkət etdirən qüvvə yaradır. Yalnız bu qradiyent hüceyrədə çox müxtəlif proseslərin, hər şeydən əvvəl ionların və üzvi birləşmələrin udulmasına sərf olunur [Birktoft et al., 1989b].

DUZ STRESİNİN AMARANTIN YARPAQ VƏ KÖKLƏRİNDƏ KA, NAD-MDH, FEPK və H^+ -NASOSLARININ AKTİVLİYİNƏ TƏSİRİ

Apardığımız tədqiqat işlərinin əsas məqsədi normal və şoranlıqda becərilmiş amarantın yarpaqlarında karbonun metabolizmində iştirak edən fermentlərin aktivliyi ilə kök sistemi hüceyrələrində H^+ -nasoslarının aktivliyinin müqayisəli öyrənilməsindən ibarətdir. Amarant toxumları fitotonda qararıqlıqda cücdərdildikdən sonra NaCl-un müxtəlifqatılıqlı məhlulu doldurulmuş (10-300 mM) bərabərhəcmli bükzlərə köçürülmüşdür.

Alınan nəticələr göstərir ki, H^+ -nasosları amarantın ontogenezinin ilkin mərhələlərində (30-cu gün) mühitin yüksək turşulaşmasına səbəb olur (kontrol ilə müqayisədə təxminən 50% yüksəlmə baş verir), sonra turşulaşma səviyyəsi inkişafın 40-cı gününədək dəyişməz qalır (cəmi 3-5% yüksəlmə) və inkişafın 50-ci günündən mühitin turşuluğu tədricən azalmağa başlayır (20-30%). İnkişafın 30 və 40-cı günlərində 100 mM NaCl qatılığında H^+ -axınlarının sürəti, əvvəlcə nəzərəçarpacaq dərəcədə artır, sonra isə getdikcə azalır. 200 mM NaCl qatılığında protonların sekresiyasının azalması amarantın yeraltı və yerüstü vegetativ orqanlarının boylarının inkişafdan qalmasına səbəb olur (cədvəl 7.2).

Bununla əlaqədar çalışmışıq ki, NaCl-un müxtəlif qatılıqlarında amarantın yarpaqlarında C_4 -dövrünün fermentlərinin aktivliyini kök sistemi ilə müqayisəli şəkildə öyrənək. Müəyyən olunmuşdur ki, amarant bitkisinde ontogenezin müxtəlif mərhələlərində NaCl-un müxtəlif qatılıqlarında stresin 30-cu gününədək yarpaqlarda KA, FEPK, NADF-MDH aktivliyi ilə kök sisteminə H^+ -nasoslarının aktivliyi arasında nəzərəçarpacaq dəyişkənlik müşahidə olunmamışdır. NaCl-un 10-100 mM qatılığında fermentlərin aktivliyinin dəyişməsi H^+ -nasosların aktivliyinin dəyişməsi ilə tamamilə üst-üstə düşmüşdür. İnkişafın sonunda (50-ci gün) fermentlərin aktivliyinin azalması ilə eyni vaxtda H^+ -nasosların aktivliyinin də azalması baş vermişdir. 200 mM qatılıqda NaCl yarpaqlarda fotosintez fermentlərinin aktivliyini və kök hüceyrələrində ATFaza aktivliyini çox qısa zamanda inhibirləşdirir. NaCl-

un yüksək qatılıqlarında amarant yarpaqlarının marfofizioloji əlamətləri, fermentlərin aktivliyi, həmçinin kök sistemlərindən rizosferaya istiqamətlənən proton axını qəflətən dəyişir və nəticədə böyümənin ləngiməsi, yarpaqların azalması və vaxtından əvvəl çiçəkləmə baş verir. Güman olunur ki, NaCl-un yüksək qatılığı şəraitində molekul daxili hidrofob qarşılıqlı təsir zəifləyir, KA, FEPK, NADF-MDH fermentlərinin molekulyar təşkili pozulur və fermentlərin tetramer formaları dimer və monomerlərə qədər dissosiasiya edir. İonlaşdırıcı qrupların pK-sının əhəmiyyətli dərəcədə dəyişməsi fermentlərin inhibirləşməsinə gətirib çıxarır.

Cədvəl 7.2

NaCl-un amarant yarpaqlarında və köklərində KA, FEPK, NADF-MDH və H⁺-nasoslarının aktivliyinə təsiri

Obyekt			NaCl-un qatılığı (mM)							
	Ferment	Orqan	K	10	100	150	200	250	300	
Amaranthus cruentus L.	KA	yarpaq	10,7	21,3	31,7	48,4		22,5	3,11	
		kök	3,8	9,3	15,4	24,7	42,8	13,8	1,5	
	30 gün	FEPK	yarpaq	12,6	17,7	23,1	34,1	35,0	11,9	0,91
			kök	2,7	4,8	12,9	20,0	21,3	1,2	0,05
	NADF-MDH	yarpaq	9,7	16,5	27,6	35,2	46,8	46,3	45,2	
		-	-	-	-	-	-	-	-	
	$\Delta H \cdot 10^{-4}$ ekv	kök	0,21	0,24	0,36	1,22	0,89	0,26	0,12	
	Amaranthus cruentus L.	KA	yarpaq	11,7	25,9	36,2	50,8	44,9	37,9	3,5
			kök	4,0	9,91	18,2	26,6	21,9	17,5	1,6
		40 gün	FEPK	yarpaq	11,9	18,5	22,1	33,1	34,9	13,2
kök				2,2	4,1	10,8	19,2	20,4	1,6	0,72
NADF-MDH		yarpaq	10,2	17,1	28,9	34,5	47,3	45,3	44,8	
		-	-	-	-	-	-	-	-	
$\Delta H \cdot 10^{-4}$ ekv		kök	0,24	0,24	0,41	0,99	1,32	0,35	0,16	
Amaranthus cruentus L.		KA	yarpaq	11,9	21,9	32,2	48,5	45,0	37,9	3,0
			kök	3,8	8,9	16,7	23,3	22,0	15,3	1,0
		50 gün	FEPK	yarpaq	8,2	13,2	21,4	31,3	34,5	12,1
	kök			1,0	2,1	6,8	9,4	14,4	1,11	0,1
	NADF-MDH	yarpaq	11,2	17,2	25,7	34,3	40,1	35,9	34,0	
		-	-	-	-	-	-	-	-	
	$\Delta H \cdot 10^{-4}$ ekv	kök	0,14	0,16	0,19	0,88	0,57	0,14	0,04	

Qeyd: Fermentlərin aktivlik vahidi: xüsusi aktivlik EU/mq zülal

Amarantın kök hüceyrələrində NADF-MDH fermentinin aktivliyi müşahidə olunmamışdır. C₄-dövrünün əsas fermentlərindən biri olan FEPK-nın aktivliyi isə bitkinin inkişaf mərhələsindən asılı olmayaraq, yarpaqlarda və kökdə NaCl-un qatılığının 200 mM-a qədər artmasına uyğun olaraq artır və

duzun qatılığının sonrakı artımı zamanı azalır. Burada yeganə fərq bitkinin kök hüceyrələrində FEPK aktivliyinin yarpaq hüceyrələrindəki FEPK aktivliyindən 2-4 dəfə az olmasıdır. Bitkinin yaşı artdıqca hər iki orqanda FEPK-nın aktivliyi, duz qatılıqlarında fermentin aktivliyinin dəyişməsi qanunauyğunluğuna uyğun olaraq azalır.

Tədqiqatlar göstərir ki, duz stresi yarpaqların ağızciq keçiriciliyini azaltmaqla CO₂-nin diffuziyasının, CO₂-nin aşağı qatılığı isə öz növbəsində, stres şəraitində fotosintezin öyrənilən fermentlərinin aktivliklərinin kəskin azalmasına səbəb olur. Mühitə DTT, FEP və malatın əlavə olunması fermentlərin reaktivasiyasını sürətləndirir və qısa vaxt ərzində özlərinin ilkin aktivlik səviyyəsinə qayıdırlar.

Belə güman edilir ki, orqanizmlərin metabolik proseslərinin tənzim olunma mexanizmlərində müəyyən rolunu oynayan H⁺-nasoslarının aktivliyi və fotosintezin bəzi fermentlərinin aktivliklərinin dəyişmə dinamikası arasında olan qanunauyğunluq yüksəkməhsuldar bitki genotiplərinin introduksiyası və seleksiyasında valideyn formaların seçilməsində biokimyəvi marker kimi istifadə oluna bilər.

YEKUN

Aparılan fundamental tədqiqatları ümumiləşdirərək belə nəticəyə gəlmək olar ki, quraqlıq stresinin təsirindən qorunmaq üçün bitkilər öz metabolizmini dəyişdirmək və metabolik çevrilmələri təkmilləşdirmək məcburiyyətində qalırlar. Bununla əlaqədar olaraq, bitkilərdə xarici mühit amillərinin təsirinə qarşı adaptasiya mexanizmlərinin formalaşmasını öyrənmək üçün bitki metabolizmində baş verən fizioloji-biokimyəvi proseslərin hüceyrə və subhüceyrə (orqanoid) səviyyəsində öyrənilməsi böyük praktik əhəmiyyət kəsb edir. Bu istiqamətdə hazırda çoxlu sayda tədqiqatların aparılmasına baxmayaraq, problemin tam həllinə hələlik nail olunmamışdır. Bu səbəbdən də, son illərdə C₃- və C₄-bitkilərdə C₄-turşuların metabolizmində iştirak edən və yüksək adaptasiyaedicilik xassəsinə malik olan karbon və malat metabolizmi fermentlərinin tədqiq olunmasına elmi ədəbiyyatda geniş yer verilir.

MDH sistemi fermentləri öz xassələrinə və lokalizasiyasına görə orqanizmlərin həyat fəaliyyətinin təmin olunmasında vacib rol oynayırlar. Onlar ali bitkilərdə bir çox metabolik proseslərdə iştirak etməklə, hüceyrədə lokalizasiyasına və kofaktor spesifikliyinə görə fərqli izoforma müxtəlifliyinə malikdirlər. MDH-lər, bitki hüceyrələrinin enerjiyə və karbon skeletinə olan tələbatının ödənilməsi üçün qlikolizdən asılılığını azaldır, üzvi turşuların məlum ehtiyatını bir yerə səfərbər etməklə, bitkilərin xarici mühitin dəyişən ekstremal şəraitinə uyğunlaşmasına cavab verirlər.

Bitki hüceyrələrində MDH-lərin iki formasına rast gəlinir: konstitutiv və induktiv. Fermentin bu formaları hüceyrədaxili paylanmasına, xarici mühit şəraitinin dəyişməsinə qarşı adaptiv reaksiyalara və fizioloji funksiyalarına görə bir-birindən fərqlənirlər. Oksidləşdirici MDH-lər (NAD-MDH, NADF-MDH) C₃- və C₄- fotosintez mexanizminə malik olan bitkilərdə CO₂ hesabına C₄-üzvi dikarbon turşularının sintezində iştirak edirlər. Dekarboksilləşdirici MDH-lər (NAD-ME, NADF-ME) isə C₄-bitkilərin örtük topa hüceyrələrində karbon qatılaşdıran mexanizm yolu ilə bu turşuların dekarboksilləşməsinə həyata keçirirlər. Nəticədə karboksilləşmə mərkəzlərində CO₂-nin qatılığı dəfələrlə artır və C₄-bitkilərdə yüksək su stresində fotosintezin normal gedişi təmin olunur.

Karboanhidraza fermenti CO₂-nin diffuziyasında və nəqlində iştirak etməklə, xloroplastların stromasında bikarbonat ionunun yaranmasına səbəb olur ki, bu da öz növbəsində xloroplastdaxili proseslərin tənzimində rol oynamaqla yanaşı, elektronların nəqlinə də təsir edir. MDH-lər və KA fermentləri C₃, C₄ və CAM- bitkilərdə bir çox spesifik xassələrə malik olmaqla fotosintezin effektivliyinin artırılmasına istiqamətlənmişlər.

Müxtəlif stres amillərin C₃- və C₄-bitkilərin metabolizmində fəaliyyət göstərən ferment sistemlərinə təsirinin öyrənilməsi göstərir ki, onlar repres-

siya olunmuş genlər vasitəsilə, ya izoferment spektrinin yeniləşməsi, fermentin induktiv izoformalarının *de novo* sintezi, ya da mövcud konstitutiv izoformaların katalitik xassələrinin dəyişməsi yolu ilə baş verir. Tədqiq edilən ferment sistemlərinin analizi MDH-lərin mürəkkəb hüceyrədaxili lokalizasiyaya malik olduğunu göstərir. Amarant (58, 63, 68, 72, 77 kDa) və buğda (58, 66, 74, 78, 82 kDa) bitkilərinin hər birində inkişafının çiçəkləməəönü mərhələsində yarpaqların subhüceyrə fraksiyalarında NAD-MDH-nin 5 konstitutiv izoformasından biridir. Bu mərhələdə torpaq quraqlığının təsirindən MH və ÖTH-də mNAD-MDH-nin 58, toxumyenişmə mərhələsində ÖTH-də 72, toxumyenişmə mərhələsində MH-də sNAD-MDH-nin 72 və 77 kDa, ÖTH-də isə sNAD-MDH-nin 68 kDa, mNAD-MDH-nin isə 58, 72 kDa molekullu yeni izoformaları sintez olunmuşdur. Amarantdan fərqli olaraq, Bərəkətli-95 buğda genotipinin sitozolunda fermentin 82, hər iki genotipin mitoxondri fraksiyasında 66 kDa molekullu yeni izoformasından biridir. Əmələ gəlmişdir. Dənyeyenişmə mərhələsində Bərəkətli-95 genotipinin sitozol və mitoxondrilərində quraqlığın təsirindən fermentin 66 kDa, Qaraqılçığ-2 genotipinin mitoxondri fraksiyasında isə 66 kDa molekullu yeni izoformasından biridir.

NADF-MDH-nin ümumi aktivliyinin 70%-i buğdanın flaq yarpaqlarında MH-nin xloroplastlarında (74 və 86 kDa), 20-25%-i sitozolda (74 kDa) lokalizasiya olunmuşdur. Ontogenezin çiçəkləmə mərhələsində torpaq quraqlığının təsirindən xloroplast fraksiyasında fermentin 90 kDa molekullu yeni izoformasından biridir.

Müəyyən olunmuşdur ki, amarant yarpaqlarında NAD-ME-nin ümumi aktivliyinin 39%-i MH-nin sitozol, 61%-i mitoxondri, 17%-i ÖTH-nin sitozol, 83%-i isə mitoxondrilərdə yerləşir. NAD-ME-nin MH və ÖTH-nin sitozolunda 115 kDa, ÖTH-nin mitoxondrilərində isə 110 kDa molekullu yeni izoformasından biridir. Quraqlıqda ÖTH-nin mitoxondrilərində əmələ gələn 121 kDa molekullu yeni izoformanın bitkilər normal suvarılma şəraitinə keçirildikdən 72 saat sonra itməsi, onun adaptiv zülal olduğunu sübut edir. Amarantdan fərqli olaraq, buğdanın inkişafının boruyaçıxma mərhələsində NAD-ME-nin ümumi aktivliyinin 63%-i mitoxondri, 37%-i isə sitozolda yerləşir. sNAD-ME və mNAD-ME-nin 76 kDa molekullu yeni izoformasından biridir. Quraqlığın təsirindən bitkinin ontogenezinin çiçəkləmə mərhələsində hər iki variantda mNAD-ME-nin 116 və 76 kDa molekullu yeni izoformasından biridir.

Buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarının sitozol və xloroplast fraksiyalarında NADF-ME-nin 72 kDa molekullu yeni izoformasından biridir. Buğda genotiplərinin yarpaqlarında kontrol və quraqlıqda NADP-ME aktivliyinin 95,83 və 93,98%-i, uyğun olaraq MH-nin xloroplast, 4,17 və 6,02%-i isə sitozol fraksiyada lokalizasiya olunmuşdur.

Müxtəlif sistematik qruplara aid olan bitkilərdə MDH sistemi fermentlərinin izoferment spektrinin müxtəlifliyi bitkilərin genotipik xüsusiyyətlərindən, toxumaların diferensasiya səviyyəsindən, metabolik tələbatdan, orqanizmin inkişaf şəraitindən, ontogenezin mərhələlərindən və xarici mühit amillərinin təsirindən asılıdır. Bu istiqamətdə aparılan tədqiqatların nəticələri göstərir ki, uzunmüddətli torpaq quraqlığı şəraitində becərilən Bərəkətli-95 və Qaraqılçiq-2 payızlıq bərk buğda genotiplərinin flaq yarpaqlarında və pulcuqlarında KA və RBFK fermentlərinin aktivliyi paralel olaraq dəyişir, kök sistemlərində KA və NAD-MDH fermentlərinin aktivliyi isə monoton artır. NADF-MDH fermentinin aktivliyi daha çox yarpaqlarda, pulcuqlarda nisbətən az, dəndə isə ümumiyyətlə, müşahidə olunmamışdır. Ehtimal etmək olar ki, su stresi şəraitində karbon və malat metabolizmi fermentləri birgə funksional fəaliyyətlə bitkini stresin zədələyici təsirindən qoruyurlar. Məlumdur ki, FEPK-nın RBFK ilə müqayisədə CO₂-yə yaxınlığı daha çoxdur. Bu, torpaq quraqlığı zamanı buxarlanmanı azaltmaq üçün ağızcıqların bağlanması nəticəsində yaranan CO₂ qıtlığı zamanı fermentin daha effektiv işlədiyini göstərir. Beləliklə də C₄-dikarbon turşularının dekarboksilləşməsi nəticəsində bitkilər, stres şəraitində normal fotosintez etmək və yaşamaq imkanı qazanırlar.

Torpaq quraqlığının təsirinə reaksiya verən ilk orqan bitkilərin yarpaqları, quraqlığın təsirinə məruz qalan ilk orqan isə kökləri olduğu kimi, quraqlığın təsirindən məhv olan sonuncu orqan da məhz köklərdir. Stres zamanı köklərdə və yarpaqlarda KA və NAD-MDH fermentlərinin aktivliyinin artması çox güman ki, ağızcıqların bağlanması nəticəsində yarpaqlarda karboksilləşmə mərkəzlərində CO₂ qatılığının azalması ilə əlaqədardır. Hesab etmək olar ki, kök hüceyrələrinin tənəffüsü və NAD-MDH fermentinin katalizatorluğu ilə oksalasetatin malata çevrilməsi reaksiyası zamanı ayrılan CO₂ molekulları KA-nın iştirakı ilə bikarbonat ionlarına (HCO³⁻) çevrildikdən sonra fotosintezdə istifadə olunmaq üçün yarpaqlara nəql olunur. Müəyyən olunmuşdur ki, toxumların südyetmə mərhələsində KA, RBFK, FEPK, NADF-MDH və NAD-MDH fermentlərinin aktivlikləri yarpaqda və sünbül elementlərində artsa da, mumiyyətlə mərhələsində dəndə və qılçıqda yalnız FEPK və NAD-MDH fermentləri müəyyən qədər aktiv olurlar. NAD-MDH fermenti isə qeyri-fotosintez funksiyaları ilə əlaqədar vegetasiyanın sonuna qədər hüceyrədə öz fəaliyyətini davam etdirir.

Müəyyən olunmuşdur ki, MDH sistemi fermentləri reproduktiv orqanların formalaşması – boruyaçıxma, sünbülləmə, çiçəkləmə, dənyetmə və toxumyetmə mərhələlərində daha yüksək fermentativ aktivliyə və izoferment tərkibinə malik olurlar. Bu mərhələdə fotosintezin sürətinin, hətta, quraqlıq şəraitində də yüksək olması, digər amillərlə birlikdə Kalvin-Benson dövrəsinin aktivləşməsinə səbəb olur. Bu aktivləşmə MH-də MDH-lərin ka-

talitik təsirindən C₄-dikarbon turşularının sintezinin sürətlənməsi ilə başlayır, ÖTH-də isə əmələ gələn C₄-dikarbon turşularının ME-lərlə dekarboksilləşməsi ilə başa çatır. Ayrılan CO₂ karboksilləşmə mərkəzlərində toplanmaqla Calvin-Benson dövrünün açar fermenti Rubisko-nun substratıdır.

Aparılan tədqiqatlar zamanı duz stresi şəraitində karbon və malat metabolizmi fermentlərinin aktivliyi ilə kök hüceyrələrində H⁺-nasoslarının aktivliyi arasında korrelyasiyanın olduğu aşkar olunmuşdur. NAD-MDH kök hüceyrələrində tənəffüsün son məhsulu CO₂-nin bir hissəsini oksalasetata çevirməklə katabolizmi davam etdirir və enerjiyanma prosesində iştirak edir. Karboanhidraza fermentinin kataliz etdiyi reaksiyasının digər məhsulu olan H⁺-ionları isə H⁺-nasosları vasitəsilə ətraf mühitə daşınmaqla növspesifik rizosferanın yaranmasına səbəb olur və hüceyrədə ion mübadiləsinin tənəzzimində iştirak edir.

ƏDƏBİYYAT SİYAHISI

Azərbaycan dilində

1. Babayev H.Q. Quraqlıq stresi zamanı bəzi birləpəli və ikiləpəli C₃- və C₄-bitkilərin ontogenezində karbon metabolizmi fermentlərinin müqayisəli tədqiqi // Azərbaycan MEA Botanika İnstitutunun Elmi Əsərləri. Bakı, 2007, XXVII c., c. 240-244

2. Babayev H.Q. Quraqlıq stresi zamanı amarant yarpaqlarının sitozol və mitoxondri fraksiyalarında NAD-malatdehidrogenaza fermentinin müqayisəli öyrənilməsi // AMEA-nın Xəbərləri. Biologiya və tibb elmləri seriyası, 2015, c. 70, № 3, s. 39-47

3. Babayev H.Q. Buğda və amarant bitkilərinin quraqlıq və duz streslərinə davamlılığının biokimyəvi xüsusiyyətləri: Biol. elm. dokt. dis. avtoref. Bakı, 2017, 467 s.

4. Bayramov Ş.M., Babayev H.Q., Mehvaliyeva U.A., Əliyeva M.N., Quliyev N.M. Işığın intensivliyinin, temperaturun və quraqlığın buğda yarpaqları malatdehidrogenazasının aktivliklərinin tənzimində rolu // Azərbaycan MEA Botanika İnstitutunun Elmi Əsərləri. Bakı, 2013, XXXIII c., s. 164-171

5. Qasimov N.A. Bitki fiziologiyası. Bakı: BDU-nun nəşriyyatı, 2008, 483 s.

6. Məmmədov Q. Torpaqşünaslıq və torpaqların coğrafiyasının əsasları. Bakı: Elm, 2007, 664 s.

7. Heydərova R.M. Kosmik təsvirlərin emalı əsasında torpaq və torpaqaltı qruntlarda sulfatlı şoranların öyrənilməsi // AMEA-nın Xəbərləri. Biologiya və tibb elmləri seriyası, 2013, c. 68, № 1, s. 90-94

8. Əliyev R.T., Abbasov M.Ə., Rəhimli V.R. Stress və bitkilərin adaptasiyası. Bakı: Elm, 2014, 348 s.

9. Əzizov Q.Z. Azərbaycanın şoranlaşmış torpaqlarının duzluluq dərəcəsi və tiplərinə görə təsnifatı. Bakı, 2002, 29 s.

10. Şhiri M. Quraqlıq stresinin qarğıdalı (*Zea mays* L.) xətlərinin kombinasiya qabiliyyətinə və hibrid bitkilərin genetik xüsusiyyətlərinə təsiri: Biol. üzrə fəl. dokt. dis. Bakı-2013, 187 s.

Rus dilində

11. Алиев Д.А., Гулиев Н.М., Идаятов Р.Б. Карбоангидраза и карбоксилирующие ферменты у генотипов пшеницы // Тезисы докладов на всесоюзном симпозиуме "Связь метаболизма углерода и азота при фотосинтезе". Пушкино, 1985, с. 94-95

12. Алиев Д.А., Гулиев Н.М., Мамедов Т.Г., Цупрун В.Л. Физико-химические свойства и четвертичная структура карбоангидразы листьев нута // Биохимия. 1986, т. 51, № 11, с. 1785-1794

13. Алиев Д.А., Гулиев Н.М., Керимов С.Х., Идаятов Р.Б. Ферменты первичного акцептирования CO₂ в онтогенезе флагового листа генотипов пшеницы // Известия АН Азерб. ССР, сер. биол. наук, 1988, № 4, с. 12-20
14. Алиев Д.А., Гулиев Н.М. Карбоангидраза растений. М.: Наука, 1990, 175 с.
15. Алиев Д.А., Керимов С.Х., Гулиев Н.М., Ахмедов А.А. Особенности метаболизма углерода у генотипов пшеницы, контрастных по фотосинтетическим признакам // Физиология растений. 1996, т. 43, № 1, с. 49-56
16. Алиев Д.А. Селекция пшеницы в Азербайджане // Известия НАН Азербайджана (сер. биол. наук). 2006, № 3-4, с. 3-32
17. Аверина Н.Г., Грицкевич Е.Р., Вершиловская И.В., Усатов А.В. и др. Механизмы формирования устойчивости растений ячменя к солевому стрессу под действием 5-аминолевулиновой кислоты // Физиология растений. 2010, т. 57, № 6, с. 849-856
18. Александрова Л.Н., Найденова О.А. Лабораторно-практические занятия по почвоведению. Л.: Издательство Колос, 1967, с. 162-163
19. Алехина Н.Д., Балнокин Ю.М., Гавриленко В.Ф. и др. Физиология растений. Под ред. И.П. Ермакова. М.: Издат. центр Академия, 2005, 635 с.
20. Андреева Т.Ф., Авдеева Т.А. Адаптация фотосинтеза C₃- и C₄-растений к условиям внешней среды // Физиология и биохимия культурных растений. 1976, № 8, вып. 3, с. 236-240
21. Аринушкин Е.Б. Руководства по химическому анализу почв. М.: Изд-во МГУ, 1970, 488 с.
22. Афанасьева Н.Б., Березина Н.А. Введение в экологию растений. М.: Изд-во МГУ, 2011, 800 с.
23. Бабаев Г.Г., Бабаева З.Б., Мехвалиева У.А. Новрузов Е.А. Амарант-моделное растение для исследования влияния стрессоров внешней среды на растений. Биологические особенности и полезные свойства // Труды Азербайджанского Национального Комитета "Человек и Биосфера" (МаВ, ЮНЕСКО). Экологическая цивилизация, устойчивое развитие, окружающая среда. Ежегодные издания, 2010, т. 6, с. 239-251
24. Бабаева З.Б., Бабаев Г.Г., Аскерова Р.К. Новый адвентивный вид рода *Amaranthus* L. во флоре Азербайджана и анатомическое строение его вегетативных органов // Доклады НАН Азербайджана, т. LIX, 2003, № 1-2, с. 225-228
25. Бабаев Г.Г., Байрамов Ш.М., Балакишиева Г.Ш., Гулиев Н.М. Фотохимическая активация хлоропластного фермента НАДФ-малат-

дегидрогеназы листьев амаранта // Труды Института Ботаники НАН Азербайджана, 2006, т. XXVI, с. 454-457

26. Бабаев Г.Г., Гасымова Ф.И., Мехвалыева У.А., Гулиев Н.М. Сравнительная характеристика фотосинтетических особенностей C_4 -растения амаранта и C_3 -растения нута // Научные Труды Института Ботаники НАН Азербайджана, 2011, т. XXXI, с. 369-376

27. Бальнокин Ю.В., Котов А.А., Мясоедов Н.А. и др. Участие дальнего транспорта Na^+ в поддержании градиента водного потенциала в системе среда-корень-лист у галофита *Suaeda altissima* // Физиология растений. 2005, т. 52, с. 549-557

28. Блюменфельд Л.А., Плешанов П.Г. Единичные циклы прямой ферментативной реакции на примере МДГ // Биофизика. 1986, т. 30, № 5, с. 760-763

29. Булычев А.А. Ионный и энергетический обмен в хлоропластах // В сб.: Итого науки и техники. Сер. физиол. растений. М., ВИНТИ, 1980, т. 4, с. 127-128

30. Веселовский В.А. Стресс растения. Биофизический подход / В.А.Веселовский, Т.В.Веселова, Д.С. Чернавский // Физиология растений. 1993, т. 40, № 4, с. 553-558

31. Воробьев Л.Н. Регулирование мембранного транспорта в растениях // В сб.: Итого науки и техники. Серия физиология растений. М., ВИНТИ, 1980, т. 4, с. 38-46

32. Воробьев Л.Н. // В сб.: Итого науки и техники. Серия физиология растений. М., ВИНТИ, 1988, т. 5, 179 с.

33. Гамбарова Н.Г., Асадова Ф.Э. Действия различных концентраций NaCl на прорастание и рост проростководно- и двудольных растений // Актуальные проблемы Биоэкологии. Сборник материалов II Международной Научно-практической конференции МГОУ, 2010, с. 154-156

34. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. - М., 1988. - 280 с.

35. Гулиев Н.М., Мамедов Т.Г., Алиев Д.А. Субъединичная структура карбоангидразы листьев нута // ДАН СССР, 1985, т. 280, № 6, с. 1466-1468

36. Детлаф Т.А. Проблемы биологии развития. Методы биологии развития. М.: Наука, 1974, 280 с.

37. Dikson M., Ugbb G. Fermenti. М.: Mir, 1982, t. 3, 906 с.

38. Доспехов В. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). М.: Агропромиздат, 1985, 35 с.

39. Егорова Н.И., Воробьев Л.Н. K^+ -стимуляция H^+ -насосов и биоэлектrogenез // В сб.: Транспорт веществ и биоэлектrogenез у растений. Горький, 1983, с. 16-22

40. Еланская И.В., Карандашова И.В. Молекулярные механизмы устойчивости к солевому стрессу у цианобактерии *Nechocystis sp.* PCC // Вестник МГУ, серия биология. 2006, № 4, с. 8-12

41. Епринцев А.Т. Малатдегидрогеназная система *Wolfla arrhiza*: характеристика и роль в адаптации к свету и темноте / А.Т. Епринцев, А.У. Игамбердиев, J.I. Ашнин // Физиология растений. 1996. т. 43, № 1, с. 36-42

42. Eprinüev A.T., Popov V.N. Fermentativnaə reguläiä metabolizma di- i trikarbonovix kislot v rasteniäx // Voronec: İzd-vo VQU, 1999, с. 134-135

43. Епринцев А.Т. Роль изоформ малатдегидрогеназы в регуляции анаболических и катаболических процессов у *Beggiatoa leptomitiformis* / А.Т. Епринцев и др. // Микробиология, 2004, т. 73, № 4, с. 437-442

44. Епринцева А.Т., Федорина О.С., Бессмельцева Ю.С. Реакция МДГ системы в мезофилле и обкладки кукурузы на солевой стресс // Физиология растений, 2011, т. 58, № 3, с. 384-390

45. Ермакова И.П. Физиология растений / М.: Издательский центр Академия, 2005. 640 с.

46. Ершов П.В. Исследование ионных транспортеров плазмолеммы и тонопласта ячменя: Автореф. дисс. канд. биол. наук. Москва, 2006, 22 с.

47. Землянухин А.А., Епринцев А.Т., Пинейру М.А. Очистка МДГ-ы из щитка кукурузы // Труды 6-ой Всесоюзной Конференции по биологии клетки. Тбилиси, 1987

48. Землянухин А.А., Пинейру М.А., Епринцев А.Т. Очистка и изоферментный спектр малатдегидрогеназы. Регуляция ферментативной активности у растений. Горький, 1990

49. Землянухин А.А., Землянухин Л.А. Метаболизм органических кислот растений. Воронеж: Изд-во Воронеж, ун-та, 1995, с. 150-152

50. Иванищев В.В. О роли малатдегидрогеназы и оксалатдекарбоксилазы в фотосинтезе C_3 -растений. Фотосинтез и фотобиотехнология. Тезисы докладов и сообщ. Международной Конференции. Пушино, 1991, с. 14

51. Иванищев В.В., Курганов Б.И. Ферменты метаболизма малата: характеристика, регуляция активности и биологическая роль // Биохимия. 1992, т. 57, № 5, с. 653-661

52. Иванищев В.В., Курганов Б.И. Выделение и кинетические свойства НАД-зависимой МДГ из хлоропластов листьев // Биохимия. 1993, т. 58, № 4, с. 606-611

53. Иванов Б.Н., Игнатова Л.К., Романова А.К. Разнообразие форм и функций карбоангидразы высших наземных растений // Физиология растений. 2007, т. 54, № 2, с. 165-185
54. Игамбердиев А.У., Попов В.Н., Фалалеева М.И. Особенности метаболизма сукцината в жирозапасующей ткани прорастающих семян злаков // Физиология растений. 1995, т. 42, № 1, с. 114-120
55. Идаятов Р.Б., Гулиев Н.М. Выделение и некоторые физико-химические параметры карбоангидразы листьев пшеницы // В сб. Труды конференции молодых ученых посвященной 70-летию ВЛКСМ, Баку, 1988, с. 8
56. Ипатова В.И. Адаптация водных растений к стрессовым факторам среды. М.: Изд-во Графикон-принт, 2005, 224 с.
57. Кафи М., Стюарт В.С., Борланд А. Содержание углеводов и пролина в листьях, корнях и апексах сортов пшеницы, устойчивых и чувствительных к засолению // Физиология растений, 2003, т. 50, № 2, с. 174-182
58. Келети Т. Основы ферментативной кинетики. Пер. с англ. М.: Мир, 1990, 350 с.
59. Киризий Д.А. Влияние искусственного изменения донорно-акцепторных отношений на углекислотный газообмен и перераспределение ассимилятов у сахарной свеклы // Физиология и биохимия культурных растений, 1998, т. 30, № 3, с. 163-169
60. Кларксон Д. Транспорт ионов и структура растительной клетки. М.: Мир, 1978, 368 с.
61. Коэн Ф. Регуляция ферментативной активности. М.: Мир, 1986, 144 с.
62. Кольман, Рем. Наглядная биохимия. Москва, Мир, 2004
63. Кононков П.Ф., Гинс В.К., Гинс М.С. Амарант - перспективная культура XXI века. Москва, 2007. Издательский дом Е. Федорова. Типография ПХУ МВД РФ Отечества, 159 с.
64. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений: учебник для студ. вузов / В.В.Кузнецов. М.: Высш. школа, 2005. 732 с.
65. Куприянова Е.В., Пронина Н.А. Карбоангидраза-фермент, преобразивший биосферу // Физиология растений, 2011, т. 58, № 2, с. 163-176
66. Куприянова Е.В., Синетова М.А., Cho M. и др. Пронина Н.А. Особенности системы карбоангидраз алколофильных цианобактерий // Физиология растений, 2013, т. 60, № 4, с. 491-498
67. Люттге У., Хигинботам Н. Передвижение веществ в растениях. М.: Колос, 1984, 408 с.

68. Магомедов И.М., Тищенко Н.Н., Юзбеков А.К. Тр. по прикл. Ботанике, генетике и селекции ВНИИ растениеводства. 1980, вып. 2, № 67, с. 100-106
69. Макеева Е.А. К методике изучения анатомии листа // Известия АН Узбекский ССР, 1948, № 1, с. 26-28
70. Мамедов Т.Г., Абдуллаева Э.Б., Гулиев Н.М. Фосфоэнол-пируваткарбоксилаза листьев нута // Известия АН Азербайджана, серия биологических наук, 1993, № 1, с. 23-26
71. Маркелова А.Г., Синетова М.П., Луприянова У.В., Пронина Н.А. распределение и функциональная роль карбоангидразы *Sah3* в тилакоидной мембране хлоропласта и пиреноида *Chlamydomonas reinhardtii* // Физиология растений, 2009, т. 56, с. 844-853
72. Мартиросов С.И. Бионасосы-работы клеток? М., Радио и связь, 1981, 144 с.
73. Мельников И.В. Влияние ионного состава среды на мембранный потенциал корневых волосков // В сб.: Ионный транспорт в растениях. Киев, Наукова Думка, 1979, с. 19-22
74. Мехвалыева У.А., Бабаев Г.Г., Байрамов Ш.М. и др. НАД-малатдегидрогеназа, очищенная из митохондрий листьев пшеницы, в условиях почвенной засухи // Труды института ботаники НАН Азербайджана, 2009, т. XXIX, с. 560-569
75. Новак В.А., Иванкина Н.Г. Регуляция транспорта неорганических ионов через плазмалемму энергетическими системами фотосинтезирующей клетки // В сб.: Биохимические и биофизические механизмы транспорта веществ у растений и его регуляция. Тезисы докладов 2-ой Всесоюзной Конференции. Горький, 1978, с. 96-97
76. Новак В.А., Иванкина Н.Г. // Доклады АН СССР, 1978, т. 242, № 5, с. 1229-1232
77. Палладина Д.А., Левченко Л.А. Ионстимулируемые АТФ-азы растительных клеток и их роль в транспорте ионов // В сб.: Ионный транспорт в растениях. Киев, Наукова Думка, 1979, с. 216-221
78. Пахомова В.М. Некоторые закономерности функционирования клеток в условиях голодания // Журнал Общей Биологии, 1993, т. 56, № 1, с. 17-29
79. Пахомова В.М. Основные положения современной теории стресса и неспецифический адаптационный синдром у растений // Цитология, 1995, № 1-2, с. 66-91
80. Персанов В. М., Воронова Е. А., Карпилов Ю. С. Исследование свойств NADP-МДГ из листьев кукурузы // Биохимия. 1976, т. 41, № 6, с. 1014-1021

81. Петербургский А.В. Агрехимия и физиология питания растений. Ростов: Сельскохозяйственная литература, 1981, с. 17-26, 113-175
82. Пинеиру де Карвалью М. А. А., Землянухин А. А., Епринцев А. Т. Малатдегидрогеназа высших растений. Воронеж. Изд-во ВГУ, 1991, 216 с.
83. Полевой В.В., Саламатова Т.С. Протонные насосы и их функциональная роль // В сб.: Итого науки и техники. Серия физиология растений. М.: ВИНТИ, 1980, т. 4, с. 78-125
84. Попов Л.Г., Балнокин Ю.В. Na^+ -АТФазы галотолерантных микроводорослей // Физиология растений. 2013, т. 60, № 4, с. 499-511
85. Прозина М.Н. Ботаническая микротехника. М.: Высшая школа, 1980, с. 106-107
86. Пронина Н.А. CO_2 -концентрирующие механизмы ССМ в эволюции биосферы // Проблемы ранней эволюции фотосинтеза / Под ред. Горленко В.М., Рожнова С.В. М.: ПИН РАН, 2011, с. 189-216
87. Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Шевякова Н.И. и др. Участие пролина в антиоксидантной защитной системе шалфея при действии NaCl и параквата // Физиология растений, 2008, т. 55, с. 721-730
88. Радюкина Н.Л., Шашукова А.В., Макарова С.С. и др. Экзогенный пролин модифицирует экспрессию генов при UV-B облучении // Физиология растений, 2011, т. 58, с. 49-57
89. Рахманкулова З.Ф. Взаимосвязь дыхания и фотосинтеза в норме и при стрессе у разных видов растений / З.Ф. Рахманкулова // Вестник Башкирского университета, 2001, № 2, вып. 1, с. 68-70
90. Романова А.К. Биохимические методы изучения автотрофии у микроорганизмов. М.: Наука, 1980, с. 42-56, 95-98
91. Романова А.К. Физиолого-биохимические признаки и молекулярные механизмы адаптации растений к повышенной концентрации CO_2 в атмосфере // Физиология растений, 2005, т. 52, с. 129-145
92. Сатар А.Ф., Парфенова И.В., Мальцева Е.В. и др. Кинетические характеристики тетрамерной формы МДГ-азы, полученной с использованием ионообменной хроматографии, из животных и бактерий // Сорбционные и хроматографические процессы. 2010, т.10, вып. 2, с. 231-236
93. Селье Г. Стресс без дистресса. М.: Прогресс, 1979, 125 с.
94. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 1989, 565 с.
95. Тарчевский И.А. Катаболизм и стресс растений. М.: Наука, 1993, 83 с.
96. Франко О.Л. Осмопротекторы: ответ растений на осмотический стресс // Физиология растений, 2000, т. 47, № 1, с. 152-159

97. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы. М.: Мир, 1986, 374 с.
98. Хелдт Г.В. Биохимия растений. М.: Бином, 2011, 472 с.
99. Хоменко А.Д. Некоторые вопросы исследований поглощения и передвижения ионов в растениях // В сб.: Ионный транспорт в растениях. Киев, Наукова Думка, 1979, с. 63-72
100. Чиков В.И. Фотосинтез и транспорт ассимилятов. / В.И. Чиков. М.: Наука, 1987, 188 с.
101. Чиркова Т.В. Амарант - культура XXI века // СОЖ. 1999, № 10, с. 22-27
102. Чиркова Т.В. Физиологические основы устойчивости растений Учебное пособие студентов биологических факультетов вузов. СПб: СПбГУ, 2002, 244 с.
103. Шанько А.В., Месенко М.М., Клычников О.И. и др. Активность протонной помпы в растущей части корня кукурузы // Биохимия, 2003, т. 68, с.1639-1647
104. Эдвардс Дж., Уокер Д. Фотосинтез C₃- и C₄-растений: механизмы и регуляция. М.: Мир, 1986, 598 с.
105. Юзбеков А.К., Шматько И.Г. Тканеспецифическая активность некоторых ферментов метаболизма C₄-кислот и цикла Кальвина у пшеницы при водном дефиците // Физиология растений, 1994, т. 41, вып. 1, с. 107

İngilis dilində

106. Abon-Zanzam A., Wallace A. Some characteristics of the mitochondrial and soluble forms of malate dehydrogenase in lemon fruits // Biochem et Biophys. Acta. 1970, v. 220, ¹ 3, p. 396-409
107. Agostino A., Jeffrey P., Hatch M.D. Amino acid sequence and molecular weight of native NADP malate dehydrogenase from the C₄ plant *Zea mays* // Plant Physiology (Bethesda). 1992, v. 98, № 4, p. 1506-1510
108. Akhani H., Chatrenoor T., Dehghani M. et al. A new species of *Bienertia* (*Chenopodiaceae*) from Iranian salt deserts: a third species of the genus and discovery of a fourth terrestrial C₄ plant without Kranz anatomy // Plant Biosystems, 2012, v. 146, p. 550-559
109. Akhani H., Khoshravesh R. The relationship and different C₄ kranz anatomy of *Bassia eriantha* and *Bassia eriophora* two often confused Irano-Turanian and Saharo-Sindian species // Phytotaxa, 2013, v. 93, № 1, p. 1-24
110. Alexieva V., Ivanov S., Sergiev I. et al. Interaction between stresses // Bulgarian Journal of Plant Physiology, 2003, p. 1-17

111. Aldous S., Weise S., Sharkey T, et al., Evolution of the Phosphoenolpyruvate Carboxylase Protein Kinase Family in C₃ and C₄ Flaveria spp. // Plant Physiology, 2014, v. 165, p. 1076-1091
112. Amthor J.S. From sunlight to phytomass: on the potential efficiency of converting solar radiation to phyto-energy // New Phytologist, 2010, v. 188, p. 939-959.
113. Anderson, L.E., and Avron, M. Light-modulation of enzyme activity in chloroplasts. Generation of membrane-bound vicinal dithiols by photosynthetic electron transport // Plant Physiology, 1976, v. 57, p. 209-213
114. Andersen M., Asch F., Wu Y., et al. Soluble invertase expression is an early target of drought stress during the critical, abortion-sensitive phase of young ovary development in maize // Plant Physiology, 2002, v. 130, p. 591-604
115. Anthony Trewavas. Plant intelligence // Naturwissenschaften, 2005, v. 92, p. 401-413
116. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // Ann. Rev. Plant Biology. 2004, v. 55, p. 373-399
117. Aquino-Silva M., Schwantes M. Schwantes A. R. Isoform expression in the multiple soluble malate dehydrogenase of *Hoplias malabaricus* (Erythrinidae, Characiformes) // Braz Journal of Biology. 2003, v. 63, p. 7-15
118. Aranjuelo I., Molero G., Erice G et al. Plant physiology and proteomics reveals the leaf response to drought in alfalfa (*Medicago sativa* L.) // J. of Exp. Botany, 2011, v. 62, № 1, p. 111-123
119. Aranjuelo W.I., Nunes-Nesi A, Nikoloski Z. et al. Metabolic control and regulation of the tricarboxylic acid cycle in photosynthetic and heterotrophic plant tissues // Plant, Cell and Environ, 2012, v. 3, p. 1-21
120. Ashraf M., Akram N., Arteca R. et al. The physiological, biochemical and molecular roles of brassinosteroids and salicylic acid in plant processes and salt tolerance // Crit Review Plant Science, 2010, v. 29, p. 1-29
121. Ashton A., Hatch M. Regulation of C₄ photosynthesis: physical and kinetic properties of active (dithiol) and inactive (disulfide) NADP-malate dehydrogenase from *Zea mays* // Archivies of Biochemistry and Biophysics, 1983, v. 227, № 2, p. 406-415; 416-425
122. Ashton A.R. NADP-malic enzyme from the C₄ plant *Flaveria bidentis*: nucleotide substrate specificity // Arch Biochem Biophys., 1997, v. 345, p. 251-258
123. Atkins C.A. Occurrence and some properties of carbonic anhydrases from Legume root nodules // Phytochemistry, 1974, v. 13, №. 1, p. 93-99

124. Atkin O., Macherel D. The crucial role of plant mitochondria in orchestrating drought tolerance // *Annals of Botany*, 2009, v. 103, p. 581-597
125. Babayev H.G., Bayramov Sh.M., Mehvaliyeva U.A. et al. Activities of C₄- photosynthetic enzymes in different wheat genotypes under continuous soil drought conditions // *Journal of Biochemistry Research*, 2013, v. 1, ¹1, p. 7-16
126. Babayev H., Mehvaliyeva U., Aliyeva M. et al. NADP-malate dehydrogenase isoforms of wheat leaves under drought: their localization and some physicochemical and kinetic properties // *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 2015, v. 11, №. 3, p. 13-25
127. Backhausen J., Emmerlich A., Holtgreffe S. et al. Transgenic potato plants with altered expression levels of chloroplast NADP-malate dehydrogenase: interactions between photosynthetic electron transport and malate metabolism in leaves and in isolated intact chloroplasts // *Planta*, 1998, v. 207, p. 104-114
128. Baker A., Graham I., Holdsworth M. et al. Chewing the fat: beta-oxidation in signalling and development // *Trends Plant Sci.*, 2006, v. 11, p. 124-132
129. Banu M., Nellaiappan K., Dhandayuthapani S. Mitochondrial malate dehydrogenase and malic enzyme of a filarial worm *Setaria digitata*: some properties and effects of drugs and herbal extracts // *Jpn. J. Med. Sci Biol.*, 1992, v. 45, ¹3, p. 137-150
130. Bardel J., Louwagie M., Jaquinod M. et al. A survey of the plant mitochondrial proteome in relation to development // *Proteomics*, 2002, v. 2, p. 880-898
131. Bartels D., Sunkar R. Drought and Salt Tolerance in Plants // *Critical Reviews in Plant Sciences*. 2005, v. 24, p. 23-58
132. Basra A.S., Basra R.K. Mechanisms of environmental stress resistance in plants. Netherland, Amsterdam: Harwood Academic Publications, 1997, 407 p
133. Bates L.S., Waldren R.P., Teare I.D. Rapid determination of free proline for water stress studies // *Plant Soil*, 1973, v. 39, p. 205-207
134. Bauwe H. Photorespiration-the bridge to C₄ photosynthesis. Raghavendra AS, Sage RF, editors. C₄ photosynthesis and related CO₂ concentrating mechanisms // Springer Verlag, Heidelberg-Berlin, 2010, p. 81-108
135. Becker T.W., Fock H.P. Effects of water stress on the gas exchange, the activities of some enzymes of carbon and nitrogen metabolism, and on the pool sizes of some organic acids in maize leaves // *Photosynthesis Research*, 1986, v. 8, p. 175-181
136. Beeler S., Liu H-C., Stadler M. et al. Plastidial NAD-dependent malate dehydrogenase is critical for embryo development and heterotrophic metabolism in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*, 2014, v. 164, p. 1175-1190

137. Behera R., Mishra P., Choudhury N. High irradiance and water stress induced alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves // *Journal of Plant Physiology*, 2002, v. 159, p. 973-976
138. Ben Hassine A., Ghanem M., Bouzid S. et al. An inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus* L. differ in their ability to accumulate proline and glycinebetaine in response to salinity and water stress // *J. of Exp. Botany*, 2008, v. 59, p. 1315-1326
139. Berkemeyer M., Scheibe R., Ocheretina O. A novel, non-redoxregulated NAD-dependent malate dehydrogenase from chloroplasts of *Arabidopsis thaliana* L. // *Journal of Biological Chemistry*, 1998, v. 273, p. 27927-27933
140. Bhutta W.M. Role of some agronomic traits for grain yield production in wheat genotypes under drought conditions // *Revista UDO Agrícola*, 2006, v. 6, p. 11-19
141. Bianchi M.W., Roux C., Vartanian N. Drought regulation of GST8, encoding the *Arabidopsis* homologue of Par C/Nt 107 glutathione transferase/peroxidase // *Physiol. Plantarum*, 2002, v. 116, p. 96-105
142. Birktoft J., Fu Z., Carnahan G., et al. Comparison of the molecular structures of cytoplasmic and mitochondrial malate dehydrogenase // *Biochem Soc Trans*, 1989a, v. 17, p. 301-304
143. Birktoft J., Rhodes G., Banaszak L. Refined crystal structure of cytoplasmic malate dehydrogenase at 2.5-Å resolution // *Biochemistry*, 1989b, v. 28, p. 6065-6089
144. Blum A. Breeding crop varieties for stress environments // *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1986, v. 2, p. 199-237
145. Bohnert H., Nelson D., Jensen R. Adaptations to environmental stresses // *Plant Cell*, 1995, v. 7, p. 1099-1111
146. Bota J., Medrano H., Flexas J. Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? // *New Phytologist*, 2004, v. 162, p. 671-681
147. Bouteau F., Dauphin A., Maarouf H. et al. Effect of desiccation on potassium and anion currents from young root hairs: Implication on tip growth // *Physiol. Plantarum*, 2001, v. 113, p. 79-84
148. Boyer J.S. Plant productivity and environment // *Science*, 1982, v. 218, p. 443-448
149. Boyer J.S., Wong S.C., Farquhar G.D. CO₂ and water vapour exchange across leaf cuticle (epidermis) at various water potentials // *Plant Physiology*, 1997, v. 114, p. 185-191
150. Boyer J. Drought decision-making // *J. of Exp. Botany*, 2010, v. 61, p. 3493-3497

151. Brestic M., Zivcak M. PSII Fluorescence Techniques for Measurement of Drought and High Temperature Stress Signal in Crop Plants: Protocols and Applications // *Molecular Stress Physiology of Plants*, 2013, p. 87-131
152. Brown H.A. Agronomic implications of C₄ photosynthesis. In: Sage RF, Monson RK, eds. *C₄ plant biology* // San Diego: Academic Press, 1999, p. 473-508
153. Buchanan B.B. Role of light in the regulation of chloroplast enzymes // *Annual Review of Plant Physiology*, 1980, v. 31, p. 341-374
154. Buchanan B., Balmer Y. Redox regulation: a broadening horizon // *Annu Rev Plant Biology*, 2005, v. 56, p. 187-220
155. Byrt C., Grof C., Furbank R. C₄ plants as biofuel feedstocks: optimising biomass production and feedstock quality from a lignocellulosic perspective // *Journal of Integrative Plant Biology*, 2011, v. 53, № 2, p. 120-135
156. Caley C., Duffus C., Jeffcoat V. Photosynthesis in pericarp of developing wheat grains // *Journal of Experimental Botany*, 1990, v. 41, № 224, p. 303
157. Camp P., Miernyk J., Randall D. Some kinetic and regulatory properties of the pea chloroplast dehydrogenase complex // *BBA: Bioenergetic*, 1988, v. 933, № 2, p. 269
158. Canapathy P., Scandalios J. Malate dehydrogenase isoenzymes in haploid and diploid *Datura species* // *Journal Hered.*, 1973, v. 64, № 4, p.186-188
159. Canellas P.F., Randolph T., Wedding R.T. Kinetic properties of the NAD-malic enzyme from cauliflower // *Arch Biochem Biophys*, 1984, v. 229, p. 414-425
160. Casati P., Spampinato C.P., Andreo C.S. Characteristics and physiological function of NADP-malic enzyme from wheat // *Plant Cell Physiology*, 1997, v. 38, p. 928-934
161. Casati P., Drincovich M.F., Andreo C.S. et al. UV-B, red and far-red light regulate induction of the C₄ isoforms of NADP-malic enzyme in etiolated maize seedlings // *Aust. J. of Plant Physiol*, 1998, v. 25, p. 701-708
162. Casati P., Drincovich M.F., Edwards G.E. et al. Malate metabolism by NADP-malic enzyme in plant defense // *Photosynthesis Research*, 1999, v. 61, p. 99-105
163. Carmo-Silva A.E., Soares A.S., Marques da Silva J. et al. Photosynthetic responses of three C₄ grasses of metabolic subtypes to water deficit // *Functional Plant Biology*, 2007, v. 34, p. 204-213
164. Carmo-Silva A.E., Silva A.B., Keys A.J. et al. The activities of PEP-carboxylase and the C₄ acid decarboxylases are little changed by drought stress in three C₄ grasses of different subtypes // *Photosynthesis Research*, 2008, v. 97, № 3, p. 223-233

165. Carmo-Silva A., Salvucci M. The activity of Rubisco's molecular chaperone, Rubisco activase, in leaf extracts // *Photosynth Res.*, 2011, v. 108, p. 143-155.
166. Carmo-Silva A., Salvucci M. The regulatory properties of Rubisco activase differ among species and affect photosynthetic induction during light transitions // *Plant Physiology*, 2013, v.161, p.1645-1655
167. Carrari F, Baxter C, Usadel B. et al Integrated analysis of metabolite and transcript levels reveals the metabolic shifts that underlie tomato fruit development and highlight regulatory aspects of metabolic network behavior // *Plant Physiology*, 2006, v.142, p.1380–1396
168. Centritto M., Loreto F., Chartzoulakis K. The use of low [CO₂] to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings // *Plant Cell and Environment*, 2003, v. 26, p. 585-594
169. Clifford E.P., Wenthold P. G., Gareyev R. et al. Photoelectron spectroscopy, gas phase acidity, and thermochemistry of tert-butyl hydroperoxide: Mechanism for the rearrangement of peroxy radicals // *J. Chem. Phys.*, 1998, v. 109, p. 10,293-10,310
170. Chandler J.W., Bartels D. In: *Encyclopedia of Water Science*. Eds: Stanley W. Trimble, Stewart B.A. Howell, T.A. Taylor and Francis. 2003, pp. 163-165.
171. Changhai S., Baodi D., Yunzhou Q. et al. Physiological regulation of high transpiration efficiency in winter wheat under drought condition // *Plant Soil Environment*, 2010, v. 56, № 2, p. 340-347
172. Chang G.G., Tong L. Structure and function of malic enzymes, a new class of oxidative decarboxylases // *Biochemistry*, 2003, v. 42, p.p. 12721-12733
173. Chaves M.M. Effects of water deficits on carbon assimilation // *Journal of Experimental Botany*, 1991, v. 42, p. 1-16.
174. Chaves M.M., Pereira J.S., Maroco J. et al. How plants cope with water stress in the field. Photosynthesis and growth // *Annals of Botany*, 2002, v. 89, p. 907-916
175. Chaves M.M., Maroco J.P., Pereira J.S. Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant // *Functional Plant Biology*, 2003, v. 30, p. 239-264
176. Chaves M.M., Oliveira M.M. Mechanisms underlying plant resilience to water deficits: prospects for water-saving agriculture // *Journal of Exp. Botany*, 2004, v. 55, p. 2365-2384
177. Chaves M.M., Flexas J., Pinheiro C. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell // *Annals of Botany*, 2009, v. 103, p. 551-560

178. Cherniad'ev I., Monakhova O. Activity of carbon metabolism enzymes in wheat plants treated with karolin-4 and exposed to water stress // *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya*, 2001, v. 37, p. 706-712
179. Chia D., Tennessee J., Retier W. et al. Fumaric acid: an overlooked form of fixed carbon in *A. thaliana* and other plant species // *Planta*, 2000, v. 211, p. 743-751
180. Chirica L.C., Elleby B., Lindskog, S. Cloning, expression and some properties of alpha-carbonic anhydrase from *Helicobacter pylori* // *Biochim. Biophys. Acta*, 2001, v. 1544, p. 55-63
181. Christopher R.B., Tony J.V. Maize drought tolerance: Potential improvement through arbuscular mycorrhizal symbiosis? // *Field Crops Res.*, 2008, v. 108, p. 14-31
182. Cook P., Cleland W. Enzyme kinetics and mechanism / New York, USA: Garland Sci., 2007, 416 p.
183. Cornic G., Le Goualles J.L., Briantais J.M. et al. Effect of dehydration and high light on photosynthesis of two C₃ plants: *Phaseolus vulgaris* L. and *Elastostema repens* (Lour) Hall F // *Planta*, 1989, v. 177, p. 84-90
184. Cornic G. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture - not affecting ATP synthesis // *Trends in Plant Science*, 2000, v. 5, p. 187-188
185. Cornic G., Massacci A. Leaf photosynthesis under drought stress. In 'Photosynthesis and the environment' // 1996, (Ed. N Baker) pp. 347-366. (Kluwer Academic Publishers: New York)
186. Cornish-Bowden A. Fundamentals of enzyme kinetics. New York, USA: Wiley-Blackwell, 2012, 510 p.
187. Cousins A., Baroli I., Badger M. et al. The role of phosphoenolpyruvate carboxylase during C₄ photosynthetic isotope exchange and stomatal conductance // *Plant Physiology*, 2007, v. 145, p. 1006-1017
188. Cousins A., Pracharoenwattana I., Zhou W., et al. Peroxisomal malate dehydrogenase is not essential for photorespiration in *Arabidopsis* but its absence causes an increase in the stoichiometry of photorespiratory CO₂ release // *Plant Physiology*, 2008, v. 148, № 2, p. 786-795
189. Covshoff S., Hibberd J. Integrating C₄ photosynthesis into C₃ crops to increase yield potential // *Current Opinions in Biotechnology*, 2012, v. 23, p. 209-214
190. Cretin C., Luchetta P., Joly C. et al. Primary structure of sorghum malate dehydrogenase (NADP) deduced from cDNA sequence // *European Journal of Biochemistry*, 1990, v. 192, p. 299-303

191. Cvetič T., Veljović-Jovanović S., Vučinić Z. Characterization of NAD-dependent malate dehydrogenases from spinach leaves // *Protoplasma*, 2008, v. 232, p. 247-253
192. Dani, K., Jamie I., Prentice I. et al. Increased ratio of electron transport to net assimilation rate supports elevated isoprenoid emission rate in eucalypts under drought // *Plant Physiology*, 2014, v. 166, № 2, p. 1059-1072
193. Davidson D., Simon J., Thermal adaptation and acclimation of ecotypic populations of *Spirodela polyrhiza* (L.) Schleid. (Lemnaceae): Thermostability and apparent activation energy of NAD malate dehydrogenase // *Can J Bot.*, 1981, v. 59, p. 1061-1068
194. Davies D. The fine control of cytosolic pH // *Physiologia Plantarum*, 1986. v. 67, p. 702-706
195. Davis B.J. Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1964, v. 121, p. 404-427
196. Decottignies P., Schmitter J.M., Miginiac-Maslow M. et al. Primary structure of the light-dependent regulatory site of corn NADP-malate dehydrogenase // *Journal of Biological Chemistry*, 1988, v. 263, p. 11780-11785
197. Delauney A.,J., Verna D.P. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants // *Plant Journal*, 1993, v. 4, p. 215-223
198. Diamantopoulos P.D., Aivalakis G., Flemetakis E. et al. Expression of three β -type carbonic anhydrase in tomato fruits // *Mol. Biol. Rep.*, 2013, v. 40, p. 4189-4196
199. Di Fiore A., Alterio V., Monti S.M. et al. Thermostable carbonic anhydrases in biotechnological applications // *Int. J. Mol. Sci.*, 2015, v. 16, № 7, p. 15456-15480
200. Dias M.C., Bruggemann W. Differential inhibition of photosynthesis under drought stress in *Flaveria* species with different degrees of development of the C⁴ syndrome // *Photosynthetica*, 2007, v. 45, № 1, p. 75-84
201. Dietz K., Pfannschmidt T. Novel regulators in photosynthetic redox control of plant metabolism and gene expression // *Plant Physiology*, 2011, v. 155, p. 1477-1485
202. Dixon B.M. The effect of pH on the affinities of enzymes for substrates and inhibitors // *Biochemistry*, 1953, v. 55, № 2, p. 161-171
203. Dörmann P. Lipid synthesis, metabolism and transport (Chapter 17). In: *Advances in photosynthesis and respiration, The structure and function of plastids*. R.R. Wise, J.K. Hooper, eds. Springer-Verlag, Dordrecht, Netherlands, 2006, p. 335-353

204. Dordal A., Mazo A., Gelpi J.L. et al. Factors affecting L-malate activation of mitochondrial malate dehydrogenase from chicken liver // *Biochem Int.*, 1990, v. 20, № 1, p. 177-182

205. Doubnerova V., Ryslava H. What can enzymes of C₄ photosynthesis do for C₃ plants under stress? // *Plant Science*, 2011, v. 180, p. 575-583

206. Drincovich M.F., Casati P., Andreo C.S. et al. UV-B induction of NADP-malic enzyme in etiolated and green maize seedlings // *Plant Cell Environ.*, 1998, v. 21, p. 63-70

207. Drincovich M.F., Casati P., Andreo C.S. NADP-malic enzyme from plants: a ubiquitous enzyme involved in different metabolic pathways // *FEBS Letters*, 2001, v. 490, p. 1-6

208. Droux M., Miginiac-Maslow M., Jacquot J-P. et al. Ferredoxin-thioredoxin reductase: a catalytically active dithiol group links photoreduced ferredoxin to thioredoxin functional in photosynthetic enzyme regulation // *Arch. of Biochem., And Biophys.* 1987, v. 256, p. 372-380

209. Dudley S.A. Differing selection on plant physiological traits in response to environmental water availability: a test of adaptive hypotheses // *Evolution*, 1996, v. 50, p. 96-102

210. Dudoladova M.V., Kupriyanova E.V., Markelova A.G. et al. The thylakoid carbonic anhydrase associated with photosystem II is the component of inorganic carbon accumulating system in cells of halo- and alcaliphillic cyanobacterium *Rhabdoderma lineare* // *BBA Bioenergetics*, 2007, v. 1767, p. 616-623

211. Dulai S., Molnar I., Pronay J. et al. Effects of drought on photosynthetic parameters and heat stability of PS II in wheat and in *Aegilops* species originated from dry habitats // *Acta Biologica Szegediensis*, 2006, v. 50, № 1-2, p. 11-17

212. Edwards G.E., Nakamoto H., Burnell J.N. et al. Pyruvate, Pi dikinase and NADP-malate dehydrogenase in C₄-photosynthesis: Properties and mechanism of light/dark regulation // *Ann. Rev. of Plant Physiol.*, 1985, v. 36, p. 255-286

213. Edwards G.E., Andreo C.S. NADP-malic enzyme from plants // *Phytochemistry*, 1992, v. 31, p. 1845-1857

214. Edwards G.E., Franceschi V.R., Voznesenskaya E.V. Single-cell C₄ photosynthesis versus the dual-cell (Kranz) paradigm // *Annual Reviews of Plant Biology*, 2004, v. 55, p. 173-196

215. Edwards E.J., Smith S.A. Phylogenetic analyses reveal the shady history of C₄ grasses // *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, v. 107, № 6, p. 2532-2537

216. Edwards E.J., Osborne C.P., Stromberg C.A. et al. The origins of C₄ grasslands: integrating evolutionary and ecosystem science // *Science*, 2010, v. 328, p. 587-591

217. Edwards G.E., Franceschi V.R., Ku M.S.B. et al. Compartmentation of photosynthesis in cells and tissues of C₄ plants // *J. of Exp. Botany*, 2011, v. 52, № 356, p. 577-590

218. Ehleringer J.R., Monson R.K. Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation // *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 1993, v. 24, p. 411-439

219. Emmerlich V., Linka N., Reinhold T. et al. The plant homolog to the human sodium/dicarboxylic cotransporter is the vacuolar malate carrier // *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, v. 100, p. 11122–11126

220. Ennahli S., Earl H. Physiological limitations to photosynthetic carbon assimilation in cotton under water stress // *Crop Sci.*, 2005, v. 45, p. 2374-2382.

221. Eprintsev A., Falaleeva M., Stepanova I. et al. Purification and physicochemical properties of malate dehydrogenase from bacteria of the genus *Beggiatoa* // *Biochemistry*, 2003a, v. 68, p. 172-176

222. Eprintsev A.T., Falaleeva M.I., Parfenova N.V. Malate dehydrogenase from the thermophilic bacterium *Vulcanithermus medioatlanticus* // *Biochemistry*, 2005, v. 70, p. 1027-1030

223. Epstein E. The essential role of calcium in selective cation transport by plant cells // *Plant Physiology*, 1961, v. 36, p. 437-444

224. Eubel H., Meyer E., Taylor N. et al. Novel proteins, putative membranetransporters, and an integrated metabolic network are revealed by quantitative proteomic analysis of *Arabidopsis* cell culture peroxisomes // *Plant Physiology*, 2008, v. 148, p. 1809-1829

225. Eriksson M., Karlsson J., Ramazanov Z. et al. Discovery of an algal mitochondrial carbonic anhydrase: molecular cloning and characterization of a low-CO₂-induced polypeptide in *Chlamydomonas reinhardtii*. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996. v. 93, p. 12031-12034

226. Errabii T., Gandonou C., Essalmani H. et al. Growth, proline and ion accumulation in sugarcane callus cultures under drought-induced osmotic stress and its subsequent relief // *Afri. J. Biotechnol.*, 2006, v. 5, p. 1148-1493

227. Evers D, Lefe`vre I, Legay S. et al. Identification of drought-responsive compounds in potato through a combined transcriptomic and targeted metabolite approach // *J. of Exp. Botany*, 2010, v. 61, p. 2327- 2343

228. Fabre N., Reiter I.M., Becuwe-Linka N. et al. Characterization and expression analysis of genes encoding alpha and beta carbonic anhydrase in *Arabidopsis* // *Plant Cell Environ.*, 2007, v.30, p. 617-629

229. Fan J., Xu H., Luo Y. et al. Impacts of CO₂ concentration on growth, lipid accumulation, and carbon-concentrating-mechanism-related gene expression in oleaginous *Chlorella* // *Appl Microbiol Biotechnol.*, 2015, v. 99, № 5, p. 2451-2462
230. FAO. Adaptation to climate change in agriculture, forestry and fisheries: Perspective, ramework and priorities. Rome: FAO; 2007; IDWG on Climate Change
231. FAO. The state of the world's land and water resources for food and agriculture (SOLAW) - Managing systems at risk. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome and Earthscan, London. 2011
232. FAO. Water quality: agriculture as water polluter. 2012
233. Farquhar G.D., Sharkey T.D. Stomatal conductance and photosynthesis // *Ann. Rev. of Plant Physiol.*, 1982, v. 33, p. 317-345
234. Fedoroff N., Battisti D., Beachy R., et al. Radically rethinking agriculture for the 21st century. *Science*, 2010, v. 327, 833-834
235. Felle H. pH: signal and messenger in plant cells // *Plant Biology.*, 2001, v. 3, p. 577-591
236. Fernandes C., Meinnes K., Cothorn T. Water status and leaf area production in water and nitrogen stressed cotton // *Crop Science*, 1996, v. 36, p.1224-1233
237. Ferry J.G. The gamma class of carbonic anhydrases // *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, v. 1804, p. 374-381
238. Ferte N., Jacquot J.R., Meunier J.C. Structural, immunological and kinetic comparisons of NADP-dependent malate dehydrogenases from spinach (C₃) and corn (C₄) chloroplasts // *European J. of Biochemistry*, 1986, v. 154, p. 587-595
239. Feyziyev Y. M. Oxygenic Photosynthesis: An Introduction // *Proceedings of ANAS Biological Sciences*, 2010, v. 65(5-6), p. 71-82
240. Fieldes M.A. Explanation of the achromatic bands produced by peroxydase isozymes in polyacrilamide electrophoresis gels stained for malatdehydrogenase // *Electrophoresis*, 1992, v. 13, p. 82-86
241. Fickenscher K., Scheibe R. Limited proteolysis of inactive tetrameric chloroplast NADP-malate dehydrogenase produces active dimers // *Arch Biochem Biophys.*, 1988, v. 260, p. 771-779
242. Flexas J., Medrano H. Drought-inhibition of photosynthesis in C₃ plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited // *Annals of Botany*. 2002, v. 89, p. 183-189
243. Flexas J., Bota J., Escalona J.M. et al. Effect of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations // *Functional Plant Biology*, 2002, v. 29, p. 461-471

244. Flexas J., Bota J., Loreto F. et al. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C₃ plants // *Plant Biology*, 2004, v. 5, p. 1-11
245. Flexas J., Galmés J., Ribas-Carbó M. et al. The effects of water stress on plant respiration. In *Plant respiration. From cell to ecosystem*. (Eds H Lambers, M Ribas-Carbo) Springer: Dordrecht, 2005, p. 85–94
246. Flexas J., Bota J., Galmes J. et al. Keeping a positive carbon balance under adverse conditions: Responses of photosynthesis and respiration to water stress // *Physiologia Plantarum*, 2006, v. 127, p. 343-352
247. Flexas J., Ribas-Carbó M., Hanson D.T. et al. Tobacco aquaporin NtAQPI is involved in mesophyll conductance to CO₂ *in vivo* // *The Plant Journal*, 2006a, v. 48, p. 427-439
248. Flexas J., Ribas-Carbó M., Bota J. et al. Decreased Rubisco activity during water stress is not induced by decreased relative water content but related to conditions of low stomatal conductance and chloroplast CO₂ concentration // *New Phytologist*, 2006b, v. 172, p. 73-82
249. Flexas J., Diaz-Espejo A., Galmes J. et al. Rapid variations of mesophyll conductance in response to changes in CO₂ concentration around leaves // *Plant, Cell and Environ*, 2007, v. 30, p. 1284-1298
250. Flexas J., Ribas-Carbo M., Diaz-spejo A. et al. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects // *Plant, Cell and Environ*, 2008, v. 31, p. 602-612
251. Foyer C.H., Valadier M.H., Migge A. et al. Drought-induced effects on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves // *Plant Physiology*, 1998, v. 117, p. 283-292
252. Fukayama H., Tamai T. , Taniguchi Y. et al. Characterization and functional analysis of phosphoenolpyruvate carboxylase kinase genes in rice // *The Plant Journal*, 2006, v. 47, № 2, p. 258–268
253. Fukayama H., Fukuda T., Masumoto C. et al. Rice plant response to long term CO₂ enrichment gene expression profiling // *Plant Sci.*, 2009, v. 177, p. 203–210.
254. Fujiwara S., Ishida N., Tsuzuki M. Circadian expression of the carbonic anhydrase gene, *Cah1*, in *Chlamydomonas reinhardtii* // *Plant Mol. Biol.*, 1996, v. 32, p. 745-749
255. Fukuzawa H., Suzuki E., Komukai Y. et al. A gene homologous to chloroplast carbonic anhydrase (*icfA*) is essential to photosynthetic carbon dioxide fixation by *Synechococcus PCC7942*. *Proc Natl. Acad. Sci. USA*, 1992, v. 89, p. 4437-4441

256. Furbank R.T., Taylor W.C. Regulation of photosynthesis in C₃ and C₄ plants. A molecular approach // *The Plant Cell.*, 1995, v. 7, №.7, p. 797-807
257. Furbank R., von Caemmerer S., Sheehy J. et al. C₄ rice: a challenge for plant phenomics // *Functional Plant Biology*, 2009, v. 36, p. 845–856
258. Furbank R.T. Evolution of the C₄ photosynthetic mechanisms: are there really three C₄ acid decarboxylation types? // *J. of Exp. Botany*, 2011, v. 62, № 9, p. 3103-3108
259. Furumoto T., Izui K., Quinn V. et al. Phosphorylation of phosphoenolpyruvate carboxylase is not essential for high photosynthetic rates in the C₄ species *Flaveria bidentis* // *Plant Physiology*, 2007, v. 144, p. 1936-1945
260. Galmés J., Flexas J., Savé R. et al. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: responses to water stress and recovery // *Plant Soil*, 2007, v. 290, p. 139-155
261. Galmés J, Flexas J, Medrano H. Photosynthetic limitation in response to water stress and recovery *Mediterranean* plants with different growth forms and leaf habits // *New Phytologists*, 2007a, v. 175, p. 81-93
262. Galmés J., Ribas-Carbó M., Medrano H. et al. Rubisco activity in Mediterranean species is regulated by the chloroplastic CO₂ concentration under water stress // *Journal of Exp. Botany*, 2011, v. 62, p. 653-665
263. Galmes J., Kapralov M., Andralojc P. et al. Expanding knowledge of the Rubisco kinetic variability in plant species: environmental and evolutionary trends // *Plant Cell Environ.*, 2014, v. 37, p. 1989-2001
264. Galvani A. The challenge of the food sufficiency through salt tolerant crops // *Rev. Env. Biotechnol.*, 2007, v. 6, p. 3-16
265. Gardestrom P., Edwards E. Isolation of mitochondria from leaf tissue of *Panicum miliaceum*, a NAD-Malic enzyme type C₄ plant // *Plant Physiology*, 1983, v. 71, №.1, p. 24-29
266. Gardeström P., Wigge B. Influence of photorespiration on ATP:ADP ratios in the chloroplasts, mitochondria, and cytosol, studied by rapid fractionation of barley (*Hordeum vulgare*) protoplasts // *Plant Physiology*, 1988, v. 88, p. 69-76
267. Gennidakis S., Rao S., Greenham K. et al. Bacterial- and plant-type phosphoenolpyruvate carboxylase polypeptides interact in the hetero-oligomeric class-2 PEPC complex of developing castor oil seeds // *Plant J.*, 2007, v. 52, p. 839-849

268. Genty B., Meyer S., Piel C. et al. CO₂ diffusion inside leaf mesophyll of ligneous plants. In: Garab Ged. Photosynthesis mechanisms and effects. Dordrecht. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 1998, p. 3961-3967
269. Ghannoum O., Conroy J.P., Driscoll S.P. et al. Non-stomatal limitations are responsible for drought-induced photosynthetic inhibition in four C₄ grasses // *New Phytologists*, 2003, v. 159, p. 835-844
270. Ghannoum O. C₄ photosynthesis and water stress // *Ann. Bot.*, 2009, v. 103, p. 635-644
271. Gietl C. MDH isoenzymes. Cellular localization and role in the flow of metabolites between the cytoplasm and cell organelles // *Biochim. Biophys. Acta*, 1992, v. 1100, p. 217-234
272. Gimenez C., Mitchell V., Lawlor P. Regulation of photosynthetic rate of two sunflower hybrids under water stress // *Plant Physiology*, 1992, v. 98, p. 516-524.
273. Gimeno L.A., Drumond R. Nieto R. et al. Stohl. On the origin of continental precipitation // *Geophys. Research Letters*, 2010, v. 37
274. Giordano M., Beardall J., Raven J.A. CO₂-concentrating mechanism in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution // *Ann. Rev. Plant Biol.*, 2005, v. 56, p. 99-131
275. Glatthaor B., Banaszak L., Bradshaw R. The identification of an asymmetric complex of nicotinamide adenine dinucleotide and pig heart cytoplasmic Malate dehydrogenase // *Biochem and Biophys. Res. Communs*, 1972, v. 46, № 2, p. 757-765
276. Glombitza C., Dubuis P.H., Thulke O. // *Plant Mol. Biol.*, 2004, v. 51, p. 1-19
277. Goddijn O.J.M., Van Dun K. Trehalose metabolism in plants // *TIBS.*, 1999, № 4, p. 315-319
278. Gonzalez M.C., Osuna L., Echevarria C. et al. Expression and localization of phosphoenolpyruvate carboxylase in developing and germinating wheat grains. *Plant // Physiology*, 1998, v. 116, p. 1249-1258
279. Gorham J., Wyn Jones R.G., Bristol A. Partial characterization of the trait for enhanced K⁺-Na⁺ discrimination in the D genome of wheat // *Planta*, 1990, v. 180, p. 590-597
280. Gotz R., Gnann A., Zimmermann F.K. Deletion of the carbonic anhydrase-like gene NCE103 of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* causes an oxygen-sensitive growth defect // *Yeast*, 1999, v. 15, p. 855-864
281. Gout I., Dhand R, Hiles I., et al. The GTPase dynamin binds to and is activated by a subset of SH₃ domains // *Cell*, 1993, v. 75, p. 25-36
282. Goward C., Nicholls D. Malate dehydrogenase: a model for structural, evolution and catalysis // *Protein Science*, 1994, v. 3, p. 1883-1888

283. Gowik U., Westhoff P. The path from C₃ to C₄ photosynthesis // *Plant Physiology*, 2011, v. 155, p. 56-63
284. Granier C., Inze D., Tardieu F. Spatial distribution of cell division rate can be deduced from that of p34 (cdc2) kinase activity in maize leaves grown at contrasting temperatures and soil water conditions // *Plant Physiology*, 2000, v. 124, p. 1393-1402
285. Gratani, L., Varone, L., Bonito, A. Environmental induced variations in leaf dark respiration and net photosynthesis of *Quercus ilex* L. // *Photosynthetica*, 2007, v. 45, p. 633-636
286. Guliev N.M., Babaev G.G., Bairamov Sh.M. et al. Purification, properties, and localization of two carbonic anhydrase from *Amaranthus cruentus* leaves // *Russian Journal of Plant Physiology*, 2003, v. 50, № 2, p. 213-219
287. Guliyev N., Bayramov Sh., Babayev H. Effect of water deficit on rubisco and carbonic anhydrase activities in different wheat genotypes. *Photosynthesis. Energy from the Sun: 14th International Congress on Photosynthesis. 2008, Chapter XV*, p. 1465-1468
288. Guo P.G., Baum M., Grando S. et al. Differentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage // *J. of Exp. Botany*, 2009, v. 60, p. 3531-3544
289. Cushman J., Bohnert H. Induction of Crassulacean acid metabolism by salinity-molecular aspects / In A Läuchli, U Lüttge, eds, *Salinity: Environment-Plants-Molecules*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 2002, p. 361-393
290. Hare, P.D., Cress, W.A., Staden, J.V. Disruptive effects of exogenous proline on chloroplast and mitochondrial ultrastructure in *Arabidopsis* leaves // *South Africanian Journal of Botany*, 2002, № 68, p. 393-396
291. Hatch M.D., Shlack C.R. NADP-specific malate dehydrogenase and glycerate kinase in leaves and evidence for their location in chloroplasts // *Biochemical and Biophysical Research Commun.*, 1969, v. 34, p. 589-593
292. Hatch M. D. Light-dark mediated activation and inactivation of NADP malate dehydrogenase in isolated chloroplasts from *Zea mays* // *Plant Cell Physiology*, 1977, v. 3, p. 311-314
293. Hatch M., Mau S. Association of NADP-linked and NAD-linked malic enzyme activities in *Zea mays*: relation to C₄ pathway photosynthesis // *Arch. Biochem. Biophys.*, 1977, v. 179, p. 361-369
294. Hatch M.D., Tsuzuki M., Edwards G.E. Determination of NAD malic enzyme in leaves of C₄ plants. Effect of malate dehydrogenase and other cofactors // *Plant Physiology*, 1982, v. 1, 69, p. 483-491

295. Hatch M.D. C₄ photosynthesis: a unique blend of modified biochemistry, anatomy and ultrastructure // *Biochim. et Biophys. Acta.* 1987, v. 895, p. 81-106
296. Hatch M.D. C₄ photosynthesis: Discovery and resolution // *Photosynthesis Research*, 2002, v. 73, № 1-3, p. 251-256
297. Hayano-Kanashiro C., Calderón-Vázquez C., Ibarra-Laclette E. et al. Analysis of gene expression and physiological responses in three Mexican maize landraces under drought stress and recovery irrigation. *PLoS ONE*, 2009, 4, e7531
298. Hebbelmann I., Selinski J., Wehmeyer C., et al. Multiple strategies to prevent oxidative stress in *Arabidopsis* plants lacking the malate valve enzyme NADP-MDH // *J. of Exp. Botany*, 2012, v. 63, p. 1445-1459
299. Heineke D., Bykova N., Gardstrom P. et al. Metabolic response of potato plants to an antisense reduction of the P-protein of glycine decarboxylase // *Planta*, 2001, v. 212, p. 880-887
300. Hibberd J., Sheehy J., Langdale J. Using C₄ photosynthesis to increase the yield of rice-rationale and feasibility // *Current Opinion in Plant Biology*, 2008, v. 11, p. 228-231
301. Hodges D.M., DeLong J.M., Forney C.F. et al. Improving the Thiobarbituric Acid-Reactive-Substances Assay for Estimating Lipid Peroxidation in Plant Tissues Containing Anthocyanin and Other Interfering Compounds // *Planta*, 1999, v. 207, p. 604-611
302. Hoerling M., Kumar A. The perfect ocean for drought // 2003, v. 31, p. 691-694
303. Holaday A.S., Ritchie S.W., Nguyen H.T. Effect of water deficit on gas exchange parameters and ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase activation in wheat // *Environmental and Experimental Botany*, 1992, v. 32, p. 403-409
304. Honda A., Akagi H., Shimada H. An isozyme of the NADP-malic enzyme of a CAM plant, *Aloe arborescens*, with variation on conservative amino acid residues // *Gene*, 2000, v. 243, p. 85-92
305. Hong Y., Morris M., Chiu C. et al. "Multicultural Minds: A Dynamic Constructivist Approach to Culture and Cognition" // *American Psychologist*, 2000, v. 55, p. 709
306. Hong H.T.K., Nose A., Agarie S. Respiratory properties and malate metabolism in Percoll-purified mitochondria isolated from pineapple, *Ananas comosus* L. Merr. cv. smooth cayenne // *Journal of Exp. Botany*, 2004, v. 55, № 406, p. 2201-2211
307. Hoque M., Okuma E., Banu M., et al. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than the betaine by increasing

antioxidant enzyme activities // *Journal of Plant Physiology*, 2007, v. 164, p. 553- 561

308. Hsieh J.Y., Liu J.H., Fang Y. W. et al. // *Arch Biochem Biophys.*, 2009, v. 487, p. 19-27

309. Huppe H., Turpin D. Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells // *Annual Reviews of Plant Physiology. Plant Molecular Biology*, 1994, v. 45, p. 577-607

310. Huseynova I.M., Allahverdiyev T.I., Babayev H.G., Aliyeva D.R., Rustamova S.M., Aliyev J.A. Wheat: approaches to improve under water stress. *Water Stress and Crop Plants: A Sustainable Approach*, 2016, *John Wiley*, UK, pp. 506-542 (invited chapter).

311. Huseynova I.M., Rustamova S.M., Suleymanov S.Y., Aliyeva D.R., Mammadov A.Ch., Aliyev J.A. Drought-induced changes in photosynthetic apparatus and antioxidant components of wheat (*Triticum durum* Desf.) varieties. *Photosynthesis Research*, 2016, 130(1-3): 215-223., DOI 10.1007/s11120-016-0244-z

312. İbragimova S.S., Kolodyazhnaya Y.S., Gerasimova S.V. et al. Partial supression of gene encoding proline dehydrogenase enhoding tolerance to various abiotic stresses // *Russian Journal of Plant Physiology*, 2012, v. 59, № 1, p. 88-96

313. Igarashi D., Miwa T., Seki M., et al. Identification of photorespiratory glutamate:glyoxylate aminotransferase (GGAT) gene in *Arabidopsis* // *Plant Journal*, 2003, v. 33, p. 975-987

314. Igarashi D, Tsuchida H, Miyao M. et al. Gluta-mate:glyoxylate aminotransferase (GGAT) modulates ami-no acid contents during photorespiration // *Plant Physiol Preview*, 2006.

315. Iglesias A.A., Andreo C.S. NADP-dependent malate dehydrogenase (decarboxylating) from sugar cane leaves // *Plant Physiology*, 1990, v. 92, p. 66-72

316. Imaizumi N., Usuda H., Nakamoto H. et al. Changes in the rate photosynthesis during grain and enzymatic activities associated with the photosynthetic carbon metabolism in rice panicles // *Plant Cell Physiology*, 1990, v. 31, № 6, p. 835

317. Intergovernmental Panel on Climate Change. 2007. <http://www.ipcc.ch>. Accessed, 25 October 2007

318. Irwin S., Patel B., Idupulapati M., et al. Abnormal dendritic spine characteristics in the temporal and visual cortices of patients with fragile-X syndrome: a quantitative examination // *American Journal of Medical Genetics*, 2001, v. 98, № 2, p. 161-167

319. Isendahl N., Sohmidt G. Drought in the Mediterranean-WWF polisy proposal. A. WWF Report, Madrid, 2006

320. Iturriaga R., Moya E. A., Del Rio R. Carotid body potentiation induced by intermittent hypoxia: implications for cardiorespiratory changes induced by sleep apnoea // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 2009, v. 36, p. 1197-1204

321. Iverson T.M., Alber B.E., Kisker C. et al. Closer Look at the Active Site of Gamma-Class Carbonic Anhydrases: High-Resolution crystallographic studies of the carbonic anhydrase from *Methanosarcina thermophila* // *Biochemistry*, 2000. v. 39. p. 9222-9223

322. Izanloo A., Condon A.G., Langridje P. et al. Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars // *J. of Exp. Botany*, 2008, v. 59, № 12, p. 3327-3346

323. Jafarov E.S., Qarayeva K.G, Babayev H.G. et al. The Functioning of the Antioxidant Defense System in Two Generations of *Solanum melongena* L., the Seeds of which before Sowing were Subjected to γ – irradiation // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2016, v. 5, № 56, p. 235-252

324. Jacquot L.P., Lancelin J.M., Meyer Y. Thioredoxin: structure and function in plant cells // *New Phytologist*, 1997, v. 136, p. 543-570

325. Jaleel C.A., Manivannan P., Lakshmanan G.M.A. et al. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soli water deficits // *Colloids and Surfaces B-iointerface*, 2008, v. 61, p. 298-303

326. Jiang Y., Hung B. Protein alternation in tall fescue in respons to drought stress and abscisic acids // *Crop Science*, 2002, v. 42, p. 202-207

327. Jian-Kang Zhu. Plant Salt Stress. Encyclopedia of life sciences, 2007, John Wiley and Sons, Ltd. www.els.net

328. Johari-Pireivatlou M. Effect of soil water stres on yield and proline content of four wheat lines // *Africanian Journal of Biotechnology*, 2010, v. 9, p. 36-40

329. Jones H.G. Moderate-term water stresses and associated changes in some photosynthetic parameters in cotton // *New Phytologist*, 1973, v. 72, p. 1095-1105

330. Kai M., Effmert U., Berg G. Volatiles of bacterial antagonists inhibit mycelial growth of the plant pathogen *Rhizoctonia solani* // *Arch Microbiology*, 2007, v. 187, p. 351-360

331. Kai M., Piechulla B. Plant growth promotions due to rhizobacterial volatiles-an effect of CO₂? // *FEBS Letters*, 2009, v. 583, p. 3473-3477

332. Kagawa T., Hatch M.D. Regulation of C₄-photosynthesis: characterization of a protein factor mediating the activation and inactivation of NADP-malate dehydrogenase // *Arch Biochem Biophys.*, 1977, v. 84, p. 290-297

333. Kagawa T., Bruno P.L. NADP-malate dehydrogenase from leaves of *Zea mays*: Purification and physical, chemical, and kinetic properties // Arch Biochem Biophys., 1988, v. 260, p. 674-695
334. Kalt W., Osmond C., Siedow J. Malate metabolism in the dark after $^{13}\text{CO}_2$ fixation in the Crassulacean plant *Kalanchoe tubiflora* // Plant Physiology, 1990, v. 94, p. 826-832
335. Kanai R., Edwards G.E. The biochemistry of C_4 -photosynthesis. In: Sage R.F., Monson R.K., eds. C_4 -plant biology. San Diego, C.A., USA: Academic Press, 1999, p. 49-87
336. Kaplan F., Kopka J., Sung D. et al Transcript and metabolite profiling during cold acclimation of Arabidopsis reveals an intricate relationship of cold-regulated gene expression with modifications in metabolite content // Plant J., 2007, v. 50, p. 967-981
337. Ke, B. Photosynthesis: Photobiochemistry and photobiophysics Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001, 763 p.
338. Khakwani A.A., Dennett M.D., Munir M. Drought tolerance screening of wheat varieties by inducing water stress conditions // Songklanakarin J. Sci. Technology, 2011, v. 33, № 2, p. 135-142
339. Khan N.A., Syeed S., Masood A. et al. Application of Salicylic Acid Increases Contents of Nutrients and Antioxidative Metabolism in Mungbean and Alleviates Adverse Effects of Salinity Stress. International Journal of Plant Biology, 2010, v. 1, pp. e1
340. Khan M.I., Fatma M., Per T.S. et al. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants // Frontiers in Plant Science, 2015, v. 6, p. 462
341. Khan A., Shaheen F., Ahmad K. et al. Amelioration of adverse effects of salt stress in Okra (*Hibiscus esculentus* L.) by foliar application of proline // Am. Eurasian J. Agric. Environ. Sci., 2015, v. 15, № 11, p. 2170-2179
342. Kim K., Guiltinan M. Identification of cis-acting elements important for expression of the starch-branching enzyme I gene in maize endosperm // Plant Physiology, 1999, v. 121, p. 225-236
343. Kim D. Differential responses of barley to drought and salt stress: Changes in antioxidative enzyme activities and free amino acids // Plant and Cell Physiology, 2004, v. 45, p. 231
344. Kisiel W., Graf G. Purification and characterization of carbonic Anhydrase from *Pisum sativum* // Phytochemistry, 1972, v. 11, p. 113-117
345. Kitasato H. The influence of H^+ on membrane potential and ion fluxes of *Nitella* // J. Gen. Physiology, 1968, v. 52, № 1, p. 52-60, 60-87
346. Kitto G., Wilson A. Evolution of malate dehydrogenase in birds // Science, 1966, v. 153, p. 1408-1410

347. Klodmann J., Sunderhaus S., Nimtz M. et al. Internal architecture of mitochondrial complex I from *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell*, 2010, v. 22, p. 797-810
348. Kreschbaum M.U.F. Recovery of photosynthesis from water stress in *Eucalyptus pauciflora*-a process in two stages // *Plant, Cell and Environment*, 1988, v. 11, p. 685-694
349. Krisknan N., Diskman M.B., Becker D.F. Proline modulates the intracellular redox environment and protects mammalian cells against oxidative stress // *Free Radic. Biol. Med.*, 2008, v. 44, p. 671-681
350. Krömer S., Scheibe R. Function of the chloroplastic malate valve for respiration during photosynthesis // *Biochem Soc Trans.*, 1996, v. 24, p. 761-766
351. Ku M.S.B., Wu J., Dai Z. et al. Photosynthetic and photorespiratory characteristics of flaveria species // *Plant Physiology*, 1991, v. 96, p. 518-528
352. Laemmly U.K. Cleavage of structural proteins during assembly of the head of bacteriophage T₄ // *Nature*, 1970, v. 77, № 4, p. 680-683
353. Lambers, H., F.S. Chapin III and T.L. Pons. *Plant physiological ecology*. Springer-Verlag, Berlin, 1998, 540 p.
354. Lambers H., Robinson S.A., Ribas-Carbo M. Regulation of respiration in vivo. *Plant respiration: from cell to ecosystem* // *Advances in photosynthesis and respiration series* Dordrecht: Springer, 2005, v. 18, p. 1-15
355. Lance Cl., Rustin P. The central role of malate in plant metabolism // *Physiol. Veg.*, 1984, v. 22, № 5, p. 625-641
356. Lane T.W., Saito M.A., George G.N. et al. A cadmium enzyme from a marine diatom // *Nature*, 2005, v. 35, p. 42-43
357. Laporte M., Shen B., Tarczynski M. Engineering for drought avoidance: expression of maize NADP-malic enzyme in tobacco results in altered stomatal function // *Journal of Exp. Botany*, 2002, v. 53, p. 699-705
358. Latzko E., Kelly G.J. The many-faceted function of phosphoenolpyruvate carboxylase in C₃ plants // *Physiol. Veg.*, 1983, v. 21, p. 805-815
359. Lawlor D., Uprety D. In: *Photosynthesis, Photoreactions to Plant productivity*. New Delhi, 1991, p. 421-445
360. Lawlor D.W. Limitation of photosynthesis in water-stressed leaves: stomata vs metabolism and the role of ATP // *Annals of Botany*, 2002, v. 89, p. 871-885
361. Lawlor D.W., Cornic G. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants // *Plant, Cell and Environment*, 2002, v. 25, p. 275-294
362. Lawlor D., Tezara W. Causes of decreased photosynthetic rate and metabolic capacity in water-deficient leaf cells: a critical evaluation of

mechanisms and integration of processes // *Annals of Botany*, 2009, v. 103, p. 543-549

363. Leakey A.D.B., Uribeharrea M., Ainsworth E.A. et al. Photosynthesis, productivity, and yield of maize are not affected by open-air elevation of CO₂ concentration in the absence of drought // *Plant Physiology*, 2006, v. 140, p. 779-790

364. Lee C.P., Eubel H., O'Toole N. et al. Heterogeneity of the mitochondrial proteome for photosynthetic and non-photosynthetic *Arabidopsis* metabolism // *Mol Cell Proteomics*, 2008, v. 7, p. 1297-1316

365. Lehmann S., Funck D., Szabados L. et al. Prolin metabolism and transport in plant development // *Amino Acids*, 2010, v. 39, p. 949-962

366. Lehninger A., Nelson D., Michael M. *Principles of Biochemistry* (5th ed.) / New York, NY: W.H. Freeman and Company. 2008, p. 528

367. Lepisto A., Kangasjarvi S., Luomala E. et al. Chloroplast NADPH-thioredoxin reductase interacts with photoperiodic development in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*, 2009, v. 149, p. 1261-1276

368. Liu S., Cheng Y., Zhang X. et al. Expression of NADP malic enzyme gene in rice (*Oryza sativa* L.) is induced by environmental stresses; over expression of the gene in *Arabidopsis* confers salt and osmotic stress tolerance // *Plant Mol. Biol.*, 2007, v. 64, p. 49-58

369. Liu B., et al. The Polarisome is required for segregation and retrograde transport of protein aggregates // *Cell*, 2010, v. 140, № 2, p. 257-267

370. Liu H., Muhammad Abdul Rab Faisal Sultan, Liu X. et al. Physiological and comparative proteomic analysis reveals different drought responses in roots and leaves of drought-tolerant wild wheat (*Triticum boeoticum*). Published online. 2015 doi: 10.1371/journal.pone.0121852 PMID: PMC4393031

371. Lizana C., Wentworth M., Martinez J.P. et al. Differential adaptation of two varieties of common bean to abiotic stress. I. Effects of drought on yield and photosynthesis // *J. of Exp. Botany*, 2006, v. 57, p. 685-697

372. Logan B., Hamelers B., Rozendal R. et al. *Microbial Fuel Cells // Methodology and Technology*. Environ. Science Technology, 2006, v. 40, p. 5181-5192

373. Long J.J., Wang J. L., Berry J.O. Cloning and analysis of the C₄ photosynthetic NAD-dependent malic enzyme of amaranth mitochondria // *Journal of Biological Chemistry*, 1994, v. 269, p. 2827-2883

374. Lopes M., Cortadellas N., Kichey T., et al. Wheat nitrogen metabolism during grain filling: comparative role of glumes and the flag leaf // *Planta*, 2006, v. 225, p. 165-181

375. Luan S. Signalling drought in guard cells // *Plant Cell Environ.*, 2002, v. 25, p. 229-237

376. Lu Y.K., Theg S.M., Stemler A.J. Carbonic anhydrase activity of the photosystem II OEC33 protein from pea plant // *Cell Physiology*, 2005, v. 46, p. 1944-1953
377. Lu Y., Ye X., Zhang Z. et al. development of a carbonate absorption-based process for post-combustion CO₂ capture: The role of biocatalyst to promote CO₂ absorption rate // *Energy Proc.*, 2011, v. 4, p. 1286-1293
378. Ludlow M.M. Adaptive significance of stomatal responses to water stress. In: Turner N.C., Kramer P.J., eds. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. New York: Wiley, 1980, p. 123-138
379. Ludwig M. The molecular evolution of β -carbonic anhydrase in *Flaveria* // *J Exp. Botany*, 2011, v. 62, p. 3071-3081
380. Ludwig M. Carbonic anhydrase and the molecular evolution of C₄ photosynthesis // *Plant Cell Environment*, 2012, v. 35, p. 22-37
381. Luchetta P., Cretin C., Gadal P. Structure and characterization of the *Sorghum vulgare* gene encoding NADP-malate dehydrogenase // *Gene*, 1990, v. 89, p. 171-177
382. Luchetta P., Cretin C., Gadal P. Organization and expression of the two homologous genes encoding the NADP-malate dehydrogenase in *Sorghum vulgare* leaves // *Journal Molecular and General Genetics MGG*. 1991, Vol. 228, Issue 3, p. 473-481
383. Lüttge U. Light-stress and crassulacean acid metabolism // *Phyton.*, 2000, v. 40, p. 65-82
384. Lüttge U. CO₂-concentrating: consequences in Crassulacean acid metabolism // *Journal of Exp. Botany*, 2002, v. 53, p. 2131-2142
385. Ma H., Kubicek C., Rohr M. Malate dehydrogenase isoenzymes in *Aspergillus niger* // *FEMS Microbiology Letters*, 1982, v. 12, № 2, p. 147-151
386. Ma S.S., Gong Q.Q., Bohnert H.J. Dissecting salt stress pathways // *J. of Exp. Botany*, 2006, v. 57, p. 1097-1107
387. Mahmood R., et al. A role for FGF-8 in the initiation and maintenance of vertebrate limb bud outgrowth // *Current Biology*, 1995, v. 5, p. 797-806
388. Makino A. Photosynthesis, Grain yield and nitrogen utilization in rice and wheat // *Plant Physiology*, 2011, v. 155, p. 125-129
389. Mancini A., Buschini A., Restivo F. et al. Oxidative stress as DNA damage in different transgenic tobacco plants // *Plant Sciences*, 2006, v. 170, № 4, p. 845-852
390. Mansour M.A. Protective effects of thymoquinone and desferri-oxamine against hepato-toxicity of carbon tetrachloride in mice // *Life Sciences.*, 2000, v. 66, p. 2583-2591

391. Martinoia E., Rentsch D. Malate compartmentation: responses to a complex metabolism // *Annu Rev Plant Physiol. Plant Mol Biol.*, 1994, v. 45, p. 447-467
392. Maroco J.P., Pereira J.S., Chaves M.M.) Stomatal responses of leaf-to-air vapour pressure deficit in Sahelian species // *Aust. J. Plant Physiology*, 1997, v. 24, p. 381-387
393. Mateos R.M., Bonilla-Valverde D., Del Rio L.A. NADP-malate dehydrogenase from pepper fruits: effect of maturation // *Physiologia Plantarum*, 2009, v. 135, p. 130-139
394. Mattioli R., Costantino P., Trovato M. Proline accumulation in plants: not only stress. *Plant Signal Behav.* 2009, v. 4, p. 1016-1018
395. Matsuoka M., Furbank R.T., Fukayama H. et al. Molecular engineering of C₄ photosynthesis // *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 2001, v. 52, p. 297-314
396. Maurino V.G., Drincovich M.F., Casati P. et al. NADP-malic enzyme: immunolocalization in different tissues of the C₄ plant maize and the C₃ plant wheat // *J. of Exp. Botany*, 1997, v. 48, p. 799-811
397. Maurino V.G., Saigo M., Andreo C.S. et al. // *Plant Molecular Biology*, 2000
398. Maurino V., Peterhansel C. Photorespiration: Current status and approaches for metabolic engineering // *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2010, v. 13, p. 249-256
399. McAlister-Henn L.M. Blaber R.A. Bradshaw S.J. Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* gene encoding malate dehydrogenase // *Nucleic Acids Reserch*, 1987, v. 15, p. 4993
400. McEvily A., Mullinax T., Dulin D. et al. Regulation of mitochondrial malate dehydrogenase: Kinetic modulation independent of subunit interaction // *Arch Biochem Biophys.*, 1985, v. 238, p. 229-236
401. McGonigle B., Nelson T. C₄ isoform of NADP-malate dehydrogenase, cDNA cloning and expression in leaves of C₄, C₃ and C₃-C₄ intermediate species of *Flaveria* // *Plant Physiology*, 1995, v. 108, p. 1119-1126
402. Medrano H., Escalona J.M., Bota J. et al. Regulation in photosynthesis of C₃ plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference // *Ann Botany*, 2002, v. 89, p. 895-905
403. Meldrum N.N., Roughton F.J.W. Carbonic Anhydrase: Its Preparation and Properties // *Nature*, 1933, v. 80, p. 113-142
404. Merlo L., Ferretti M., Ghisi R. et al. Developmental changes of enzymes of malate metabolism in relation to respiration, photosynthesis and nitrate assimilation in peach leaves // *Physiologia Plantarum*, 1993, v. 89, p. 71-76

405. Miflin B. Crop improvement in the 21st century // *J. of Exp. Botany*, 2000, v. 51, p. 1-8
406. Miginiac-Maslow M., Issakidis E., Lemiare M. et al. Light-dependent activation of of NADP-malate dehydrogenase: a complex process // *Aust. J. Plant Physiology*, 1997, v. 24, p. 529-542
407. Mikulášová D., M. Kollárová M. Miginiac-Maslow P. et al. Purification and characterization of the malate dehydrogenase from *Streptomyces aureofaciens* // *FEMS Microbiol Lett.*, 1998, v. 159, p. 299-305
408. Miller S.S., Driscoll B.T., Gregerson R.G. et al. Alfalfa malate dehydrogenase (MDH): molecular cloning and characterization of five different forms reveals a unique nodule-enhanced MDH // *Plant Journal*, 1998, v. 15, № 2, p. 173-184
409. Minard K.I., McAlister-Henn L. Isolation, nucleotide sequence analysis, and disruption of the MDH2 gene from *Saccharomyces cerevisiae*: evidence for three isozymes of yeast malate dehydrogenase // *Mol Cell Biol.*, 1991, v. 11, № 1, p. 370-380
410. Minarik P., Tomaskova N., Kollarova M. et al. Malate dehydrogenase-structure and function // *Gen. Physiol. Biophys.*, 2002, v. 21, p. 257-265
411. Mitchell P. Chemi-osmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation // *Biol. Rev.*, 1966, v. 2, p. 44, 445-502
412. Mitchell J.H., Siamhan D., Wamala M.H. et al. The use of seedlings leaf death score for evaluation of drought resistance of rice // *Field Crops Research*, 1998, v. 55, p. 129-139
413. Mittler R. Abiotic stress, the field environment and stress combination // *Trends Plant Sci.*, 2006, v. 1, p. 15-19
414. Miyao M. Molecular evolution and genetic engineering of C₄ photosynthetic enzymes // *J. of Exp. Botany*, 2003, v. 54, № 381, p. 179-189
415. Miyashita K., Tanakamaru S., Maitani T. et al. Recovery responses of photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance in kidney bean following drought stress // *Environ. and Exp. Botany*, 2005, v. 53, p. 205–214
416. Mohammadkhani N., Heidari R. Drought-induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties // *World Applied Sci. J.*, 2008, v. 3, p. 448-453
417. Morison J.L.L., Lawson T., Cornic G. Lateral CO₂ diffusion inside dicotyledonous leaves can be substantial: quantification in different light intensities // *Plant Physiology*, 2007, v. 145, p. 680-690
418. Morgan J. Pollen grain expression of a gene controlling differences in osmoregulation in wheat leaves a simple breeding method // *Aust. J. Agric. Res.*, 1999, v. 50, p. 953-962

419. Moskvin O.V., Shutova T.V., Khristin M.S. et al. Carbonic anhydrase activities in peathylakoids. A photosystem II core complex-associated carbonic anhydrase // *Photosynthesis Research*, 2004, v. 79, p. 93-100
420. Mottram J., Graham H. Purification of particulate malate dehydrogenase and phosphoenolpyruvate carboxykinase from *Leishmania mexicana* // *Biochemica et Biophysica*, 1985, v. 827, № 3, p. 310-319
421. Mueller C.O., Whitney S.M. Directing the evolution of Rubisco and Rubisco activase: first impressions of a new tool for photosynthesis research // *Photosynthesis Research*, 2008, v. 98, p. 667-675
422. Mueller-C.O., Stotz M., Wendler P. et al. Structure and function of the AAA? Protein CbbX, a red-type Rubisco activase // *Nature*, 2011, v. 479, p. 194-199
423. Muhaidat R., Sage R., Dengler N. Diversity of Kranz anatomy and biochemistry in C₄ eudicots // *American Journal of Botany*, 2007, v. 94, p. 362-381
424. Muller G.L., Drincovich M.F., Andreo C.S. et al. *Nicotiana tabacum* NADP-malic enzyme: Cloning, characterization and biological role analysis // *Plant Cell Physiology*, 2008, v. 49, p. 469-480
425. Mullinax T., Mock J., McEvily A. et al. Regulation of mitochondrial malate dehydrogenase. Evidence for an allosteric citrate-binding site // *J. Biological Chemistry*, 1982, v. 25, p. 13233-13239
426. Munns R., Guo G., Passioura J.B. et al. leaf water status controls day-time but not daily rates of leaf expansion in salt-treated barley // *Australian Journal of Plant Physiology*, 2000, v. 27, p. 949-957
427. Munns R. Comparative physiology of salt and water stress // *Plant Cell and Environment*, 2002, v. 25, p. 239-250
428. Munns R. Genes and salt tolerance: bringing them together // *New Phytologist*. 2005, v.167, p. 645-663
429. Munns R., James R.A., Lauchli A. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and others cereals // *J. of Exp. Botany*, 2006, Vol. 57, p. 1025-1043
430. Munns T., Tester M. Mechanisms of salinity tolerans // *Annu Rev Plant Biology*, 2008, v. 59, p. 651-681
431. Munns R. Strategies for crop improvement in salina soil. In Ashraf M., Ozturk M., Athar HR (eds). *Salinity and water stress improving crop efficiency*, v. 44, Taska for vegetation sci. Springer, Berlin, 2009, p. 99-110
432. Muramatsu M., Suzuki R., Yamazaki T. et al. Comparison on plant-type phosphoenolpyruvate carboxylases from rice: Identification of two plant-specific regulatory regions of the allosteric enzyme // *Plant Cell Physiology*, 2015, v. 56, № 3, p. 468-480

433. Murata T., Ohsugi R., Matsuoka M. et al. Purification and characterization of NAD-ME from leaves of *Eleusine coracana* and *Panicum dichotomiflorum* // *Plant Physiology*, 1989, v. 89, p. 316-324
434. Murata N., Takanashi S., Nishiyama Y. et al. Photoinhibition of photosystem II under environmental stress // *Biochem et Biophys Acta*, 2007, p. 100-107
435. Musrati R.A., Kollarova M., Mernik N. et al. Malate dehydrogenase: distribution, function and properties // *Gen Physiol. Biophys.*, 1998, v. 17, № 3, p. 193-210
436. Ndayishimiye J., Greve M., Stoffelen P., et al. Modelling the spatial distribution of endemic Caesalpinioideae in Central Africa, a contribution to the evaluation of actual protected areas in the region. *International Journal of Biodiversity and Conservation*, 2012, v. 4, № 3, p. 118-129
437. Neish A.C. Studies on chloroplasts. Their chemical composition and the distribution of certain metabolites between the chloroplasts and the remainder of the leaf // *Biochem. J.*, 1939, v. 33, p. 300-308
438. Nelson R., Kokic P., Crimp S. et al. The vulnerability of Australian agriculture to climate variability and change // Part I. Conceptualising and measuring vulnerability. *Environ. Science and Policy.*, 2010, v. 13, p. 8-17
439. Newman, E.A. A physiological measure of carbonic anhydrase in Müller cells // *Glia*, 1994, v. 11, p. 291-299
440. Nimmo H.G. Control of the phosphorylation of Phosphoenolpyruvate carboxylase in higher plants // *Arch. Biochem. Biophys.*, 2003, v. 414, p. 189-196
441. Nishiyama M., Matsubara N., Yamamoto K. et al. Nucleotide sequence of the malate dehydrogenase gene of *Thermus flavus* and its mutation directing an increase in enzyme activity // *Journal of Biological Chemistry*, 1986, v. 261, p. 14178-14183
442. Nolman E.A., Gubler C.J., Kyby S.A. Glucose phosphate dehydrogenase // *J. Biol.Chem.*, 1961, v. 236, №.5, p. 1225-1227
443. Nunes-Nesi A., Carrari F., Lytovchenko A. et al. Enhanced photosynthetic performance and growth as a consequence of decreasing mitochondrial malate dehydrogenase activity in transgenic tomato plants // *Plant Physiology*, 2005, v. 137, p. 611-622
444. Nunes-Nesi A., Carrari F., Gibon Y. et al. Deficiency of mitochondrial fumarase activity in tomato plants impairs photosynthesis via an effect on stomatal function // *Plant J.*, 2007, v. 50, № 6, p. 1093-1096
445. Ober E.S., Luterbacher M.C. Genotypic variation for drought tolerance in *Beta vulgaris* // *Annals of Botany*, 2002, v. 89, p. 917-924

446. Ochertina O., Harnecker J., Rother T. et al. Effects of N-terminal truncations upon chloroplast NADP-malate dehydrogenases from pea and spinach // *Biochim et Biophys Acta*, 1993, v. 1163, p. 10-16
447. Ohshima T. Sakuraba H. *Rhodospseudomonas capsulata*. Purification and characterization of Malate dehydrogenase from the phototrophic bacterium, *R.capsulata* // *Biochim.et Biophys. Acta. Protein Structural and Molecular Enzymology*, 1986, v. 869, № 2, p. 171-177
448. Okuma E., Murakami Y., Shimoishi Y. et al. Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions // *Soil and Plant Nutrition*, 2004, v. 50, p. 1301-1305
449. Oliveira Dal'Molin C.G., Orellana C., Gebbie L. et al. Metabolic reconstruction of *Setaria italica*: A systems biology approach for integrating tissue-specific omics and pathway analysis of bioenergy grasses // *Front. Plant Sci.*, 2016
450. Osmond C.B., Grace S.C. Perspectives on photoinhibition and photorespiration in the field: quintessential inefficiencies of the light and dark reactions of photosynthesis // *J. of Exp. Botany*, 1995, v. 46, p. 1351-1362
451. Osuna L., Pierre J., Gonz'alez M. et al. Evidence for a slow-turnover form of the Ca^{2+} -independent phosphoenolpyruvate carboxylase kinase in the aleurone-endosperm tissue of germinating barley seeds // *Plant Physiology*, 1999, v.119, p. 511-520
452. Ozturk L., Demir Y. In Vivo and in vitro protective role of praline // *Plant Growth Regul.*, 2002, № 38, p. 259-264
453. Page A.L., Chang A.C., Adriano D.C. Deficiencies and toxicities of trace elements // *Agric. Salinity Asses. Manage.*, 1990, № 71, p. 138-160
454. Parida A., Dagaonkar V., Phalak M. et al. (Differential responses of the enzymes involved in proline biosynthesis and degradation in drought tolerant and sensitive cotton genotypes during drought stress and recovery // *Acta Physiol Plant*, 2008, v. 30, p. 619-662
455. Parry MAJ, Androlojc PJ, Khan S. et al. Rubisco activity: effects of drought stress // *Annals of Botany*, 2002, v. 89, p. 833–839
456. Parry M., Reynolds M., Salvucci M. et al. Raising yieldpotential of wheat. II. Increasing photosynthetic capacity and efficiency // *J. of Exp. Botany*, 2011, v. 62, p. 453-467
457. Parry M., Andralojc P., Scales J., et al. Rubisco activity and regulationas targets for crop improvement // *J. of Exp. Botany*, 2013, v. 64, p. 717-730
458. Passioura J. The drought environment: physical, biological and agricultural perspectives // *J. of Exp. Botany*, 2007, v. 58, p. 113-117

459. Peters E., Joseph S., Day S. et al. Measuring delusional ideation: the 21-item Delusions Inventory (PDI) // *Schizophrenia Bulletin*, 2004, v. 30, p. 1005-1022
460. Pierre J.N., Prieto J.L., Gaolal P. et al. *In situ* phosphoenolpyruvate carboxylase activity and kinetic properties in isolated *Digitaria sanguinalis* mesophyll cells // *Photosynthesis Research*, 2004, v. 79, p. 349-355
461. Pinfield-Wells H., Rylott E., Gilday A. et al. Sucrose rescues seedling establishment but not germination of *Arabidopsis* mutants disrupted in peroxisomal fatty acid catabolism // *Plant J.*, 2005, v. 43, p. 861-872
462. Pinheiro C., Chaves M. Photosynthesis and drought: can we make metabolic connections from available data // *J. of Exp. Botany*, 2011, v. 62, № 3, p. 869-882
463. Pinheiro C., Kehr J., Ricardo C. Effect of water stress on lupine stem protein analyzed by two-dimensional gel electrophoresis // *Planta*, 2005, v. 221, p. 716-728
464. Pinto M.E., Casati P., Hsu T.P. et al. Effects of UV-B radiation on growth, photosynthesis, UV-B absorbing compounds and NADP-malic enzyme in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different nitrogen conditions // *J. Photochem Photobiol B Biol.*, 1999, v. 48, p. 200-209
465. Pocker Y., Ng J.S.Y. Plant carbonic anhydrase: Properties and carbon dioxide hydration kinetics // *Biochemistry*, 1973, v. 12, № 25, p. 5127-5134
466. Poole P. Ion transport and electrogenic pumps in storage tissue cells // *Canadian Journal Botany*, 1974, p. 25-27
467. Ponnuswamy V., Bright S., Lipton A. et al. Purification and properties of novel malate dehydrogenase isolated from *Pseudomonas aeruginosa* // *Asian Journal of Biotechnology*, 2011, v. 3, № 5, p. 478-485
468. Portis A. Rubisco activase: Rubisco's catalytic chaperone // *Photosyn. Research*, 2003, v. 75, p. 11-27
469. Potvin C., Simon J.P., Blanchard M.H. Thermal properties of NAD malate dehydrogenase and glutamate oxaloacetate transaminase in two genotypes of *Arabidopsis thaliana* (*Cruciferae*) from contrasting environments // *Plant Science Letters*, 1983, v. 31, p. 35-47
470. Pracharoenwattana I., Cornah J., Smith S. *Arabidopsis* peroxisomal citrate synthase is required for fatty acid respiration and seed germination // *Plant Cell*, 2005, v. 17, № 7, p. 2037-2048
471. Pracharoenwattana I., Cornah J., Smith S. *Arabidopsis* peroxisomal malate dehydrogenase functions in beta-oxidation but not in the glyoxylate cycle // *The Plant Journal*, 2007, v. 50, p. 381-390

472. Price G.D., Badger M.R., Woodger F.J. et al. Advances in Understanding the Cyanobacterial CO₂-Concentrating-Mechanism (CCM): Functional Components, Ci Transporters, Diversity, Genetic Regulation and Prospects for Engineering into Plants // J. of Exp. Botany, 2008, v. 59, p. 1441-1461

473. Quayle J.R., Fuller R.C., Benson A.A. et al. Enzymatic carboxylation of ribulose diphosphate // J. Amer. Chem. Soc., 1954, v. 76, p. 3610-3611

474. Raines C. Transgenic approaches to manipulate the environmental responses of the C₃ carbon fixation cycle // Plant Cell Environ., 2006, v. 29, p. 331-339

475. Rahnema A., James R.A., Pustini K. et al. Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil // Funct Plant Biol., 2010, v. 37, p. 255-263

476. Rampino P., Pataleo S., Gerardi C. et al. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes // Plant, Cell and Environ., 2006, v. 29, p. 2143-2152

477. Raschke K. Stomatal opening quantitatively related to potassium transport. Evidence from electron probe analysis // Plant Physiology, 1971, v. 48, p. 447-453

478. Rathnam C., Edwards G. C₄ acid decarboxylation and CO₂ donation to photosynthesis in bundle sheath strands and chloroplasts from species representing three groups of C₄ plants // Arch. Biochem. Biophys., 1977, v. 182, p. 1-13

479. Reiland S., Messerli G., Baerenfaller K. et al. Large-scale Arabidopsis phosphoproteome profiling reveals novel chloroplast kinase substrates and phosphorylation networks // Plant Physiology, 2009, v. 150, p. 889-903

480. Reng W., Riessland R., Scheibe R. et al. Cloning, site-specific mutagenesis, expression and characterization of full-length chloroplast NADP-malate dehydrogenase from *Pisum-sativum* // European Journal of Biochemistry, 1993, v. 217, p. 189-197

481. Reumann S., Weber A. Plant peroxisomes respire in the light: some gaps of the photorespiratory C₂ cycle have become filled-others remain // Biochim Biophys Acta, 2006, v. 1763, № 12, p. 1496-1510

482. Reynolds M., Foulkes M.J., Slafer G.A. et al. Raising yield potential in wheat // J. of Exp. Botany, 2009, v. 60, p. 1899-1918

483. Rothermel B.A., Nelson T. Primary structure of maize NADP-dependent malic enzyme // J. Biol Chem., 1989, v. 264, p. 19587-19592

484. Riccardi F., Gazeau P., De Vienne D. et al. Protein changes in response to progressive water deficit in maize // *Plant Physiology*, 2000, v. 11, p. 1253-1263
485. Rickli E.E., Chazanfar S.A.S., Gibbons B.H. et al. Carbonic anhydrase from human erythrocytes. Preparation and properties of two enzymes // *J. Biol. Chem.*, 1964, v. 239, p. 1065-1078
486. Ripley B.S., Gilbert M.E., Ibrahim D.G. et al. Drought constraints on C₄ photosynthesis: stomatal and metabolic limitations in C₃ and C₄ subspecies of *Alloteropsis semialata* // *J. of Exp. Botany*, 2007, v. 58, p. 1351-1363
487. Ripley B., Donald G., Osborne C.P. et al. Experimental investigation of fire ecology in the C₃ and C₄ subspecies of *Alloteropsis semialata* // *Journal of Ecology*, 2010, v. 98, p. 1196–1203
488. Roberts S.B., Lane T.W., Morel F.M.M. Carbonic anhydrase in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii* (Bacillariophyceae) // *J. Phycol.*, 1997, v. 33, p. 845-850
489. Rocha V., Mukerji S., Ting I.P. Chloroplast Malic dehydrogenase: a new dehydrogenase isoenzyme from spinach // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1968, v. 31, № 6, p. 890-894
490. Rosegrant M. W., Cline S. A., Global Food Security: Challenges and Policies // *Science*, 2003, v. 302, p. 1917-1919
491. Rowlett R.S. Structure and catalytic mechanism of the beta-carbonic anhydrases // *Biochim Biophys Acta*, 2010, v. 1804, № 2, p. 362-373
492. Rudenko N.N., Ignatova L.K., Fedorchuk T.P. et al. Carbonic anhydrase in photosynthetic cells of higher plants // *Biochemistry*, 2015, v. 80, № 6, p.798-813
493. Rumeau D., Cuine S., Fina L. et al. Subcellular distribution of carbonic anhydrase in *Solanum tuberosum* L. leaves // *Planta*, 1996, v. 199, p. 79-88
494. Rustin P., Lance C. Malate metabolism in leaf mitochondria from the Crassulacean Acid Metabolism plant *Kalanchoe blossfeldiana*. Pelln // *Plant Physiology*, 1986, v. 81, № 4, p. 854-858
495. Ryslava H, Doubnerova V, Muller K. et al. The enzyme kinetics of the NADP-malic enzyme from tobacco leaves // *Collect Czech Chem C.*, 2007, v. 72, p. 1420-1434
496. Sage R.F., Monson R.K., Sage R.F. et al. The taxonomic distribution of C₄ photosynthesis. In: Sage RF, Monson RK, editors. C₄ plant biology. San Diego, CA: Academic Press; 1999, p. 551-584
497. Sage R.F. The evolution of C₄ photosynthesis // *New Phytologist*, 2004, v. 161, p. 341-370

498. Sage R.F., Zhu X.G. Exploiting the engine of C₄ photosynthesis // *J. of Exp. Botany*, 2011, v. 62, p. 2989-3000
499. Sage R.F., Christin P.A., Edwards E.J. The C₄ plant lineages of planet Earth // *J. of Exp. Botany*, 2011, v. 62, № 3, p. 3155-3169
500. Sage R., Sage T., Kocacinar F. Photorespiration and the evolution of C₄ photosynthesis // *Ann. Rev. Plant Biol.*, 2012, v. 63, p. 19-47
501. Saigo M., Bologna F.P., Maurino V.G. et al. Maize recombinant non-C₄ NADP-malic enzyme: a novel dimeric malic enzyme with high specific activity // *Plant Mol. Biol.*, 2004, v. 55, p. 97-107
502. Saitou K., Agata W., Asakura M. et al. Structural and kinetic properties of NADP-malic enzyme from the inducible Crassulacean Acid Metabolism plant *Mesembryanthemum crystallinum* L. // *Plant Cell Physiology*, 1992, v. 33, p. 595-600
503. Sakano K. Revision of biochemical pH-stat: involvement of alternative pathway metabolism // *Plant and Cell Physiology*, 1998, v. 39, p. 467-473
504. Sandor S., Yvette T., Somogyi A. The legacy of Hans Selye and the origins of stress research: A retrospective 75 years after his landmark brief "Letter" to the Editor of *Nature Stress*, 2012, v. 15, № 5, p. 472-478
505. Scheibe R., Fickenscher K. The dark (oxidized) form of the light - activatable NADP Malate dehydrogenase from pea Chloroplasts is catalytically active in presence of guanidine HCl // *FEBS Lett.*, 1985, v. 80, № 2, p. 317-320
506. Scheibe R., Stitt M. Comparison of NADP-malate dehydrogenase activation, QA reduction and O₂ evolution in spinach leaves // *Plant Physiol. Biochem.*, 1988, v. 26, p. 473-481
507. Scheibe R. Light-dark modulation regulation of chloroplast metabolism in a new light // *Bot Acta*, 1990, v. 103, p. 327-334
508. Scheibe R. Malate valves to balance cellular energy supply // *Physiologia Plantarum*, 2004, v. 120, p. 21-26
509. Scheibe R., Backhausen J., Emmerlich V. et al. Strategies to maintain redox homeostasis during photosynthesis under changing conditions // *J. of Exp. Botany*, 2005, v. 56, p. 1481-1489
510. Scheibe R., Dietz K. Reduction-oxidation network for flexible adjustment of cellular metabolism in photoautotrophic cells plan // *Cell and Environment*, 2012, v. 35, p. 202-216
511. Schnarrenberger C., Martin W. Evolution of the enzymes of the citric acid cycle and the glyoxylate cycle of higher plants // *European J. Biochemistry*, 2002, v. 269, № 3, p. 868-883

512. Schulze E.D. Carbon dioxide and water vapour exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil // *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 1986, v. 37, p. 247-274
513. Schulze J. Malate plays a central role in plant nutrition // *Plant and Soil*, 2002, v. 247, № 1, p. 133-139
514. Schwarte S., Bauwe H. Identification of the photorespiratory 2-phosphoglycolate phosphatase, PGLP1, in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*, 2007, v. 144, p. 1580-1586
515. Sedmak J.J. Grossberg S.E. A rapid, sensitive, and versatile assay for protein using coomassie Brilliant Blue G-250 // *Annals of Biochemistry*, 1977, v. 79, p. 544-552
516. Selinski J., Konig N., Wellmeyer B. et al. The plastid-localized NAD-dependent malate dehydrogenase is crucial for energy homeostasis in developing *Arabidopsis thaliana* seeds // *Mol. Plant*, 2014, v. 7, p. 170-186
517. Selye H. Stress and disease // *Science*, 1955, v. 122, p. 625-631
518. Selye H. Stress and general adaptation syndrome // *British Medical Journal*, 1950
519. Siddique M.R.B., Hamid A., Islam M.S. Drought stress effects on photosynthetic rate and leaf gas exchange of wheat // *Bot. Bull. Acad. Sin.*, 1999, v. 40, p. 141-145
520. Singh D.N., Singh I.S. Line \times tester analysis in maize (*Zea mays* L.) // *J. Res. Birsa Agri. Uni.*, 1998, v. 10, p. 177-182
521. Smirnov N. Plant resistance in environmental stresses // *Curr. Opin. Biotechnol.*, 1998, v. 9, p. 214-219
522. Smirnov N. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation // *New Phytol.*, 1993, v. 125, p. 27-58
523. Sims D.A., Gamon J.A. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages // *Remote Sensing of Environ.*, 2002, v. 81, p. 337-354
524. Sio-Se Marde A., Ahmadi A., Pustini K. et al. Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions // *Field Crop Res.*, 2006, v. 98, p. 222-229
525. Skirycz A., De Bodt S., Obata T. et al. Developmental stage specificity and the role of mitochondrial metabolism in the response of *Arabidopsis* leaves to prolonged mild osmotic stress // *Plant Physiology*, 2010, v. 152, p. 226-244
526. Shah H., Andrews D. Malate dehydrogenase and glucose-6-phosphate dehydrogenase, key markers for studying the genetic diversity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* // *FEMS Microbiol. Lett.*, 1994, v. 122, № 1-2, p. 69

527. Shao H., He X., Achnine L. et al. Crystal structures of a multifunctional triterpene/flavonoid glycosyltransferase from *Medicago truncatula* // *Plant Cell*, 2005, v. 17, p. 3141-3154

528. Sharma S., Verslues P. Mechanisms independent of abscisic acid (ABA) or proline feedback have a predominant role in transcriptional regulation of proline metabolism during low water potential and stress recovery // *Plant Cell Environment*, 2010, v. 33, p. 1838-1851

529. Sharma S., Villamor J., Verslues P. Essential role of tissue-specific proline synthesis and catabolism in growth and redox balance at low water potential // *Plant Physiology*, 2011, v. 157, p. 292-304

530. Shearer H.L., Turpin D.H., Dennis D.T. Characterization of NADP-dependent malic enzyme from developing castor oil seed endosperm // *Arch Biochem Biophys.*, 2004, v. 429, p. 134-144

531. Shinozaki K., Yamaguchi-Shinozaki K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance // *J. of Exp. Botany*, 2007, v. 58, p. 221-227

532. Shirley M., Alves M. Anatomical features of species of *Cyperaceae* from northeastern Brazil // *Brittonia*, 2009, v. 61, p. 189-200

533. Shirley M., Machado S.R., Scatena V.L. An overview about ultrastructure of Kranz anatomy in *Cyperaceae* (*Poales*) // *Rodriguésia*, 2015, v. 66, p. 633-643

534. Shirley M., Scatena V.L. Bundle sheath ontogeny in Kranz and non-Kranz species of *Cyperaceae* (*Poales*) // *Aust J Bot.*, 2011, v. 59, p. 554-562

535. Shirley M., Scatena V.L. Anatomical variations in scapes of *Eleocharis minima* Kunth (*Cyperaceae*, *Poales*) - amphibian and Kranz species // *Rodriguésia*, 2015, v. 66, p. 627-631

536. Shevchenko V.T. Morphobiological study of bread wheat embryo in the view of the different seed qualities // *Biology and seed technology*, Kharkov, 1974, p. 209 (in Russian)

537. Sommer M., Bräutigam A., Weber A. The dicotyledonous NAD malic enzyme C₄ plant *Cleome gynandra* displays age-dependent plasticity of C₄ decarboxylation biochemistry // *Plant Biology* (Stuttg), 2012, v. 14, № 4, p. 621-629

538. Spanswick R.M. Plasmodesmata in *Nitella translucens*: structure and electrical resistance // *J. Cell Science*, 1974, v. 2, p. 451-464

539. Stitt M., Gibon Y. Why measure enzyme activities in the era of systems biology? // *Trends in Plant Science*, 2014, v. 19, №4, p. 256-265

540. Stitt M., Muller C., Matt P. et al. Steps towards an integrated view of nitrogen metabolism // *J. of Exp. Botany*, 2002, v. 53, p. 959-970

541. Subbarao G.V., Wheeler R.M., Levine L.H., Stutte G.W. Glycine betaine accumulation, ionic and water relations of red-beet at contrasting

levels of sodium supply // *J. Plant Physiol.*, 2001, № 158, p. 767-776

542. Sun Wei-Hong¹., Wu Yan-You., Sun Zhen-Zhen. Et al. Enzymatic characteristics of higher plant carbonic Anhydrase and its role in photosynthesis // *Journal of Plant Studies*, 2014, v. 3, № 2, p. 39-44

543. Sundaram T., Wright I., Wilkinson A. Malate dehydrogenase from thermophilic and mesophilic bacteria. Molecular size, subunit structure, amino acid composition, immunochemical homology, and catalytic activity // *Biochemistry*, 1980, v. 19, p. 2017-2022

544. Supuran C.T. Bacterial carbonic anhydrases as drug targets: toward novel antibiotics? // *Front Pharmacol.*, 2011, v. 2, p. 34

545. Surridge C. Agricultural biotech: the rice squad // *Nature*, 2002, v. 416, p. 576-578

546. Süß K., Prokherenko I., Adler K. In situ association of Calvin cycle enzymes, ribulose-1.5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activase, ferredoxyn-NADP⁺ reductase, and nitrite reductase with thylakoid membranes of *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplasts as revealed by immunoelectron microscopy // *Plant Physiology*, 1995, v. 107, p. 1387-1397

547. Szabados L., Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid // *Trends Plant Sci.*, 2010, v. 15, p. 89-97

548. Szekely G., Abraham E., Cseplo A. et al. (Duplicated P5CS genes of *Arabidopsis* play distinct roles in stress regulation and developmental control of proline biosynthesis // *Plant J.*, 2008, v. 53, p. 11-28

549. Takahara K., Kasajima I., Takahashi H. et al. Metabolome and photochemical analysis of rice plants overexpressing *Arabidopsis* NAD kinase gene // *Plant Physiology*, 2010, v. 152, p. 1863-1873

550. Takeuchi Y., Akagi H., Kamasawa N. et al. Aberrant chloroplasts in transgenic rice plants expressing a high level of maize NADP-dependent malic enzyme // *Planta*, 2000, v. 211, p. 265-274

551. Tanaka S., Kerfeld C.A., Sawaya M.R. et al. Atomic-level models of the bacterial carboxysome shell // *Science*, 2008, v. 319, p. 1083-1086

552. Taniguchi M., Burnett W., Cable J. et al. Investigation of submarine groundwater discharge // *Hydrological Processes*, 2002, v. 16, p. 2115-2129

553. Taniguchi Y., Ohkawa H., et al. Overproduction of C₄ photosynthetic enzymes in transgenic rice plants: an approach to introduce the C₄-like photosynthetic pathway into rice // *J. of Exp. Botany*, 2008, v. 59, p. 1799-1809

554. Taniguchi M., Miyake H. Redox shuttling between chloroplast and cytosol: integration of intra-chloroplast and extra-chloroplast metabolism // *Curr Opin Plant Biology*, 2012, v. 15, p. 252-260

555. Tambussi E.A., Nogues S., Araus J.L. Ear of durum wheat under water stress: water relations and photosynthetic metabolism // *Planta*, 2005, v. 19, p. 1-25

556. Tatar O., Gevrek M.N. Influence of water stress on proline accumulation, lipid peroxidation and water content of wheat // *Asian J. Plant Sci.*, 2008, v. 7, p. 409-412

557. Taylor N.L., Rudhe C., Hulett J.M., Lithgow J.M., Glaser E. // *FEBS Lett.*, 2003, v. 547, p. 125-130

558. Tesfaye., Temple S., Allan D. et al. Overexpression of malate dehydrogenase in transgenic alfalfa enhances organic acid synthesis and confers tolerance to aluminum // *Plant Physiology*, 2001, v. 127, p. 1836-1844

559. Tezara W., Mitchell V., Driscoll S., Lawlor D. Waterstress inhibits plant photosynthesis by decreasing couplingfactor and ATP // *Nature*, 1999, v. 401, p. 914-917

560. Tezara W., Mitchall V., Driscoll S.P. et al. Effects of water deficite and its interaction with CO₂ supply on the biochemistry and physiology of photosynthesis in sunflower // *J. of Exp. Botany*, 2002, v. 375, p. 1781-1791

561. Theriappan P., Aditya K., Dhasarathan P. Accumulation of Proline under Salinity and Heavy metal stress in Cauliflower seedlings // *J. Appl. Sci. Environ. Manage.*, 2011, v. 15, №2, p. 251-255

562. Thimmanaik S., Giridara Kumar S., Jyothsna Kumari G. et al. Photosynthesis and the enzymes of photosynthetic carbon reduction cycle in mulberry during water stress and recovery // *Photosynthetica*, 2002, v. 40, p. 233-236

563. Ting I., Rocha V. NADP-specific malatedehydrogenase of green spinach leaf tissue // *Arch. Biochem. and Biophys.*, 1971, v. 147, № 1, p. 156

564. Timm S., Nunes-Nesi A., Pamik T. et al. Cytosolic pathway for the conversion of hydroxypyruvate to glycerate during photorespiration in *Arabidopsis* // *Plant Cell.*, 2008, v. 20, p. 2848-2859

565. Tiwari A., Kumar P., Singh S. et al. Carbonic anhydrase in relation to higher plants // *Photosynthetica*, 2006, v. 43, p. 1-11

566. Tobias C., Sarath G., Twigg P. et al. Comparative genomics in switchgrass using 61,585 high-quality expressed sequence tags // *The Plant Genome*, 2008, v. 1, p. 111-124

567. Tobin A., Givan C. ATP inhibition of Malate dehydrogenase from mung bean hypocotyl mitochondria//*Plant Science Zett*, 1989, v. 34, № 1, p. 51-59

568. Tomaz T., Bagard M., Pracharoenvwattana I. et al. Mitochondrial malate dehydrogenase lowers leaf respiration and alters photorespiration and plant growth in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*, 2010, v. 154, p. 1143-1154

569. Tronconi M., Fahnenstich H., Gerrard Weehler M., et al. Arabidopsis NAD-malic enzyme functions as a homodimer and heterodimer and has a major impact on nocturnal metabolism // *Plant Physiology*, 2008, v. 146, p. 1540-1552

570. Tronconi M.A., Wheeler M.C.G., Maurino V.G. et al. NAD-malic enzymes of *Arabidopsis thaliana* display distinct kinetic mechanisms that support differences in physiological control // *Biochemical Journal*, 2010, v. 430, p. 295-303

571. Tsuchida H., Tamai T., Fukayama H. et al. High level expression of C₄-specific NADP-malic enzyme in leaves and impairment of photoautotrophic growth of a C₃ plant, rice // *Plant and Cell Physiology*, 2001, v. 42, p. 138-145

572. Tucker J.B. Amaranth: the once and future crop // *Bioscience*, 1986, v. 36, № 1, p. 9-13

573. Ueno O. Ultrastructural localization of photosynthetic and photorespiratory enzymes in epidermal, mesophyll, bundle sheath and vascular bundle cells of the C₄ dicot *Amaranthus viridis* // *J. of Exp. Botany*, 2001, v. 52, № 358, p. 1003-1013

574. Ueno O. Ultrastructure and carbon isotope ratios of leaves in C₄ species of *Rhynchospora* (*Cyperaceae*) that differ in the location of Kranz cells // *International Journal of Plant Science*, 2013, v. 174, p. 702-709

575. Umeda M., Hare C., Matsubayashi Y. et al. Expressed sequence tags from cultured cell of rice (*Oryza sativa* L.) under stressed conditions: analysis of genes engaged in ATP-generating pathway // *Plant Molecular Biology*, 1994, 25: 469-478

576. Usuda H., Ku M.S.B., Edwards G.E. Rates of photosynthesis relative to activity of photosynthetic enzymes, chlorophyll and soluble protein content among ten C₄ species // *Australian J. of Plant Physiol.*, 1984, v. 11, p. 509-517

577. Valderrama R., Corpas E.J., Carreras A. et al. The dehydrogenase-mediated recycling of NADPH is a key antioxidant system against salt-induced oxidative stress in olive plants // *Plant Cell Environment*, 2006, v. 29, p. 1449-1459

578. Valenti V., Pupillo P. Activation kinetics of NAD-dependent malic enzyme of cauliflower bud mitochondria // *Plant Physiology*, 1981, v. 68, № 5, p. 1191-1196

579. Valkoun J. Wheat pre-breeding using wild progenitors // *Euphytica*, 2001, v. 119, p. 17-23

580. Vance C., Gantt J. Control of nitrogen and carbon metabolism in root nodules // *Physiol. Plant*, 1992, v. 85, p. 266-274

581. Verslues P., Sharma S. Proline metabolism and its implications for plant-environment interaction. The Arabidopsis Book, Am. Soc. Plant Biology, 2010, v. 8
582. Verslues P.E., Bray E.A. Role of abscisic acid (ABA) and *Arabidopsis thaliana* ABA-insensitive loci in low water potential-induced ABA and proline accumulation // J. of Exp. Botany, 2006, v. 57, p. 201-212
583. Vidal J., Chollet R. Regulatory phosphorylation of C₄ PEP carboxylase // Trends Plant, 1997, v. 2, p. 203-241
584. von Caemmerer S. Biochemical models of leaf photosynthesis. Melbourne: CSIRO Publishing; 2000
585. von-Caemmerer S, Evans J. Enhancing C₃ photosynthesis // Plant Physiology, 2010, v. 154, p. 589-592
586. von Caemmerer S., Quick W.P., Furbank R.T. The development of C₄ rice: current progress and future challenges // Science, 2012, v. 336, № 6089, p. 1671-1672
587. Vorobiev L.N., Musaev N.A. In: Plant membrane transport: Current conceptual issue. Elsevier Amsterdam e.a. 1980, p. 575-576
588. Voznesenskaya E.V., Franceschi V.R., Kiirats F.O. et al. Kranz anatomy is not essential for terrestrial C₄ plant photosynthesis // Nature, 2001, v. 414, p. 543-546
589. Wall A.S., Mattoo A.K. Malate dehydrogenase from thermophilic *Humicola lanuginosa* and *Mucor pusillus*: purification and comparative properties of the enzyme // Canadian J. Biochem Cell Biology, 1984, v. 62, № 7, p. 559-565
590. Wang W.X., Vinocur B., Altman A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance // Planta, 2003, 218, p. 1-14
591. Wang Yu., Brautigam A., Weber A. et al. Three distinct biochemical subtypes of C₄ photosynthesis? A modeling analysis // J. of Exp. Botany, 2014, v. 53, № 7, p. 3568-3578
592. Wardlaw I.F. The control of carbon partitioning in plants // New Physiology, 1990, v. 116, № 3, p. 341-381
593. Warren C.R. Estimating the internal conductance to CO₂ movement // Functional Plant Biology, 2006, v. 33, p. 431-442
594. Wedding R.T. Malic enzymes of higher plants. Characteristics, regulation and physiological function // Plant Physiology, 1989, v. 90, p. 367-371
595. Wei-Hong S., Yan-You W., Zhen-Zhen S. et al. Enzymatic characteristics of higher plant carbonic anhydrase and its role in photosynthesis // Journal of Plant Studies, 2014, v. 3, No. 2, p. 39-44

596. Weininger M., Dirktoft J., Banaszak L. Conformational changes and nonequivalence in the binding of NAD⁺ to cytoplasmic malate dehydrogenase / Pyridine Nucl. Depend. Dehydrogenase: Proc. 2nd Int Symp. Konstanz, 1977, p. 87-100
597. Weiping CH., Zenan H., Loacheng W. et al. Changzhou et. Effect of Sali and nitrogen on cotton growth in arid environment // Plant and Soil, 2010, v. 326, № 1-2, p. 61-73
598. Wheeler M.C., Tronconi M.A., Drincovich N.F. et al. A comprehensive analysis of the NADP-malic enzyme gene family of *Arabidopsis thaliana* // Plant Physiology, 2005, v. 139, p. 39-51
599. Whitney S., Kane H., Houtz R. et al. Rubisco oligomers composed of linked small and large subunits assemble into tobacco plastids and have higher affinities for CO₂ and O₂ // Plant Physiology, 2009, v. 149, p. 1887-1895
600. Whitney S., Houtz R., Alonso H. Advancing our understanding and capacity to engineer nature's CO₂-sequestering enzyme, Rubisco // Plant Physiology, 2011, v. 155, p. 27-35
601. Wilbur K.M., Anderson N.G. Electrometric and colometric determination of carbonic anhydrase // J. Biological Chemistry, 1948, v. 176, p. 147-151
602. Willeford K.O., Wedding R.T., Evidence for a multiple subunit composition of plant NAD-malik enzyme // J. Biol. Chem, 1987, vol. 262, p. 8423-8429
603. Willeford K., Wedding R. Oligomerization and regulation of higher plant phosphoenolpyruvate carboxylase // Plant Physiology, 1992, v. 99, p. 755-758
604. Wilkinson S., Davies W.J. Drought, ozone, ABA and ethylene: new insights from cell to plant to community // Plant, Cell and Environment, 2010, v. 33, p. 510-525
605. Winning B.M., Bourguignon J., Leaver C.J. Protein concentration was determined by the method of Sedmak and Grossberg using bovine serum albumin (BSA) as standart (Sedmak, Grossberg, 1977) // J. Biol. Chem., 1994, v. 269, p. 4780-4786
606. Wise S., Boussaoud D., Johnson P. et al. Premotor and parietal cortex: corticocortical connectivity and combinatorial computations 1 // Annu. Rev. Neurosci., 1997, v. 20, p. 25-42
607. Wu Y.Y., Li X.T., Hao J.C. et al. Study on the difference of the activities of carbonic anhydrase in different plants // Guihaia, 2006, v. 26, p. 366-369
608. Wynn J., Hamid A., Ratledge C. The role of malic enzyme in the regulation of lipid accumulation in filamentous fungi // Microbiology, 1999, v. 145, p. 1911-1917

609. Xiao L., Lian B., Hao J. et al. Effect of carbonic anhydrase on silicate weathering and carbonate formation at present day CO₂ concentrations compared to primordial values // *Sci Rep.*, 2015, v. 5, p. 7733
610. Xu Z., Zhou G. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass // *J. Exp. Botany*, 2008, v. 59, p. 3317-3325
611. Xue C., et al. Magnificent seven: roles of G protein-coupled receptors in extracellular sensing in fungi // *FEMS Microbiol Review*, 2008, v. 32, № 6, p. 1010-32
612. Yamane K., Mitsuya S., Taniguchi M. et al. Salt-induced chloroplast protrusion is the process of exclusion of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase from chloroplasts into cytoplasm in leaves of rice // *Plant Cell Environ.*, 2012, v. 35, № 9, p. 1663-1671
613. Yang S.L., Lan S.S., Gong M. Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings // *J. Plant Physiol.*, 2009, v. 166, p. 1694-1699
614. Yang S., Vanderbeld B., Wan J. et al. Narrowing down the targets: towards successful genetic engineering of drought-tolerant crops // *Molecular Plant*, 2010, v. 3, № 3, p. 469-490
615. Yashvant P., Ram N., Kumari S. et al. A new antibiotic resistant mutant of *Pleurotus sajor-caju* with improved expression of malate dehydrogenase enzyme // *IJALS*, 2013, v. 6, № 1, p. 36-43
616. Yennaco L., Hu Y., Holden F. Characterization of malate dehydrogenase from the hyperthermophilic archaeon *Pyrobaculum islandicum* // *Extremophiles*, 2007, v. 11, p. 741-746
617. Yu Ding, Qing-Hu Ma. Characterization of a cytosolic malate dehydrogenase cDNA which encodes an isozyme toward oxaloacetate reduction in wheat // *Biochimie*, 2004, v. 86, p. 509-518
618. Yu S., Zhang X.X., Guan Q.J. et al. Expression of a carbonic anhydrase gene is induced by environmental stresses in Rice (*Oryza sativa* L.) // *Biotech. Letters*. 2007, v. 29, p. 89-94
619. Zabaleta E., Martin M.V., Braun H.P. A basal carbon concentrating mechanism in plants? // *Plant Sci: Int J Exp Plant Biol*. 2012, v. 187, p. 97-104
620. Zagendorf A. Photophosphorilation and the chemiosmotic hypothesis // in: *Energy Conversion by the Photosynthetic Apparatus*, Brookhaven Symposia in Biology, 1967, v. 19, p. 215-241
621. Zell M., Fahnenstich H., Maier A. et al. Analysis of *Arabidopsis* with highly reduced levels of malate and fumarate sheds light on the role of these organic acids as storage carbon molecules // *Plant Physiology*, 2010, v. 152, p. 1251-1262

622. Zhang Y., Zhu H., Zhang Q. et al. Phospholipase D α 1 and phosphatidic acid regulate NADPH oxidase activity and production of reactive oxygen species in ABA-mediated stomatal closure in *Arabidopsis* // *Plant Cell*, 2009, v. 21, p. 2357-2377
623. Zhanghua H., Tao Zh., Renhu L. et al. PEP carboxylases in *Arabidopsis* leaves plays a crucial role in carbon and nitrogen metabolism // *Plant Physiology*, 2015, v. 167, p. 671-681
624. Zhijian Ch., Lili S., Pandao L. et al. Malate synthesis and secretion mediated by a manganese-enhanced malate dehydrogenase confers superior manganese tolerance in *Stylosanthes guianensis* // *Plant Physiology*, 2015, v. 167, p. 176-188
625. Zhu J.K. Salt and drought stress signal transduction in plants // *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 2002, № 53, p. 247-273
626. Zhu X., Long S., Ort D. Improving photosynthetic efficiency for greater yield // *Annual Review of Plant Biology*, 2010, v. 61, p. 235–261
627. Zimmerman S.A., Ferry J.G. The beta and gamma classes of carbonic anhydrase // *Curr. Pharm. Des.*, 2008, v. 14, p. 716-721

İXTİSARLARIN SİYAHISI

ATF	–	adenozintrifosfat
ADF	–	adenozindifosfat
AlAT	–	alanin amino transferaza
AsAT	–	aspartat amino transferaza
BSA	–	öküzün zərdab albumini
DNT	–	dezoksiribonuklein turşusu
CAM	–	Crassilacea asid metabolizm
Ci	–	CO ₂ hüceyrədaxili qatılığı
DTT	–	ditiotreytol
[ES]	–	ferment-substrat kompleksi
ENZ	–	elektron-nəqliyyat zənciri
EDTA	–	etilendiamintetraasetat turşusu
FQK	–	fosfoqliseratkinaza
FEP	–	fosfoenolpiruvat
FEPK	–	FEP karboksilaza
FEPKK	–	FEP-karboksikinaza
KA	–	karboanhidraza
kDa	–	kilodalton
LPO	–	lipidlərin peroksid oksidləşməsi
NADH	–	nikotinamidadenindinukleotid
NAD-MDH	–	NAD-malatdehidrogenaza
NAD-ME	–	NAD malik enzim
NADFH ₂	–	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat
NADF-MDH	–	NADF-malatdehidrogenaza
NADF-ME	–	NADF-malik enzim
NBT	–	nitrotetrazol göyü
MDA	–	malondialdehid
MH	–	mezofil hüceyrə
MOPS	–	3-(<i>N</i> -morfolin) propansulfat turşusu
mMDH	–	mitoxondri malatdehidrogenazası
m.ç.	–	molekul çəkisi
MP	–	membran potensialı
ÖTH	–	örtük topa hüceyrə
OA	–	oksalasetat
PEQ	–	polietilenqlikol
Pn	–	fotosintezin intensivliyi
PFDK	–	piruvat ortofosfat dikinaza
pIMDH	–	plastid malatdehidrogenaza
PVP	–	polivinilpirrolidon

PAAG	–	poliakrilamid gel elektroforez
FQT	–	fosfoqliserin turşusu
FQA	–	fosfoqliserin aldehidi
Gly-6-F	–	qlükoza 6-fosfat
FMS	–	fenazinmetasulfat
RNT	–	ribonuklein turşusu
Rubisko	–	ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza/oksigenaza
RBFK	–	ribulozo-bis fosfatkarboksilaza
RuBF	–	ribuloza-1,5-bisfosfat
Rf	–	ləngimə faktoru
SNM	–	Suyun nisbi miqdarı
sMDH	–	sitoplazmatik malat dehidrogenaza
SOD	–	superoksiddismutaza
THF	–	tetrahidrofol turşusu
TBT	–	tiobarbitur turşusu
Tr	–	transpirasiya sürəti
ÜTT	–	üç karbonlu turşular tsikli
SDS	–	natrium dodesil sulfat
U	–	fermentin aktivlik vahidi
g_s	–	ağızcıqlarının keçiriciliyi
g_m	–	mezofil keçiriciliyi
KQM	–	karbon qatılaşıdırın mexanizm
K_m	–	Mixaelis Menten sabiti
FSI	–	fotosistem I
FSII	–	fotosistem II
QAFDH	–	qliseraldehidfosfatdehidrogenaza
V_{max}	–	reaksiyanın maksimum sürəti

M Ü N D Ə R İ C A T

GİRİŞ	3
I FƏSİL. STRES VƏ ADAPTASIYA	9
Stres amilləri haqqında ümumi məlumat	9
Quraqlığın bitkilərə təsirinin fizioloji-biokimyəvi əsasları	12
Şoranlığın bitkilərə təsirinin fizioloji-biokimyəvi əsasları	20
Quraqlıq və duzluluq şəraitində CO ₂ -nin assimilyasiyası	24
Ali bitkilərin yarpaqlarının fotosintez funksiyası və su stressi	25
C ₃ -bitkilərin yarpaqlarının quruluş və metabolik xüsusiyyətləri	26
C ₄ -bitkilərin yarpaqlarının quruluş və metabolik xüsusiyyətləri	29
II FƏSİL. ALI BİTKİLƏRDƏ CO ₂ -NİN ASSİMİLYASIYASI.....	35
Ali bitkilərdə CO ₂ -nin assimilyasiyasının C ₄ - yolu	35
Ali bitkilərdə CO ₂ -nin assimilyasiyasının CAM yolu	39
CAM və C ₄ - bitkilərin yarpaqlarında CO ₂ qatılma mexanizmi	39
III FƏSİL. BİTKİLƏRİN STRESƏ ADAPTASIYASINDA FERMENTLƏRİN ROLU	42
Amarant yarpaqlarından MH və ÖTH-nin və onların subhüceyrə fraksiyalarının ayrılması və təmizlənməsi	45
Buğda yarpaqlarından Mezofil hüceyrələrinin və onların subhüceyrə fraksiyalarının ayrılması və təmizlənməsi	49
Ribulozo-1,5-bisfosfatkarboksilaza	49
Fosfoenolpiruvat-karboksilaza	50
Karboanhidraza	52
Quraqlığın buğda genotiplərində KA fermentinin aktivliyinə təsiri	56
Quraqlıq şəraitində amarant və buğda yarpaqlarında fotosintezin açar fermentlərinin tədqiqi	58
Ali bitkilərdə malatın (alma turşusunun) metabolizmi.....	68
NAD-malatdehidrogenaza	70
Amarant və buğda yarpaqlarında NAD-MDH fermentinin tədqiqi.....	73
Quraqlığın amarant və buğda yarpaqlarında NAD-MDH fermentinin aktivliyinə, izoferment spektrinə və subhüceyrə paylanmasına təsiri	75
NADF-malatdehidrogenaza və malat klapanı	82
Quraqlığın buğda yarpaqlarında NADF-MDH fermentinin aktivliyinə, izoferment spektrinə və subhüceyrə paylanmasına təsiri	87
NAD-malik enzim	91
Quraqlığın amarant və buğda yarpaqlarında NAD-malik enzim fermentinin aktivliyinə, izoferment spektrinə və subhüceyrə paylanmasına təsiri.....	93

NADF-malik enzim	100
Quraqlığın buğda yarpaqlarında NADF-ME fermentinin aktivliyinə, izoferment spektrinə və subhüceyrə paylanmasına təsiri	106
IV FƏSİL. FERMENTLƏRİN FİZİKİ-KİMYƏVİ VƏ KİNETİK XASSƏLƏRİ	110
MDH fermentlərinin fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinin qısa icmalı	110
Quraqlığın amarant və buğda yarpaqlarında NAD-MDH fermentinin izoformalarının bəzi fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinə təsiri	116
Reaksiya mühitinin pH-nın NAD-MDH aktivliyinə təsiri	121
Reaksiya mühitinin temperaturunun NAD-MDH aktivliyinə təsiri	124
Reaksiya sürətinin substratın qatılığından asılılığı	127
Quraqlığın buğda yarpaqlarında NADF-MDH fermentinin izoformalarının bəzi fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinə təsiri	132
Reaksiya mühitinin pH-nın NADF-MDH aktivliyinə təsiri	133
Reaksiya mühitinin temperaturunun NADF-MDH aktivliyinə təsiri	135
Reaksiya sürətinin substratın qatılığından asılılığı	136
Quraqlığın amarant və buğda yarpaqlarında NAD-ME fermentinin izoformalarının bəzi fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinə təsiri	138
Reaksiya mühitinin pH-nın NAD-ME aktivliyinə təsiri	140
Reaksiya mühitinin temperaturunun NAD-ME aktivliyinə təsiri	143
Reaksiya sürətinin substratın qatılığından asılılığı	145
Quraqlığın buğda yarpaqlarında NADF-ME fermentinin izoformalarının fiziki-kimyəvi və kinetik xassələrinə təsiri.....	148
Reaksiya mühitinin pH-nın NADF-ME aktivliyinə təsiri	148
Reaksiya mühitinin temperaturunun NADF-ME aktivliyinə təsiri	150
Reaksiya sürətinin substratın qatılığından asılılığı	151
V FƏSİL. FERMENTLƏRİN AKTİVLİYİNİN TƏNZİMİ	153
Kofaktorun (NADH) NAD-MDH aktivliyinə təsiri	154
Aktivatorun (MgCl ₂) NAD-MDH aktivliyinə təsiri	156
İnhibitorun (ATF) NAD-MDH aktivliyinə təsiri	158
NADF-MDH aktivliyinin tənzim olunması.	
Kofaktorun (NADFH) NADF-MDH aktivliyinə təsiri	161
Aktivatorun (MgCl ₂) NADF-MDH aktivliyinə təsiri	162
İnhibitorun (ATF) NADF-MDH aktivliyinə təsiri	163
NAD-ME aktivliyinin tənzim olunması.	
Kofaktorun (NAD ⁺) NAD-ME aktivliyinə təsiri	164
Aktivatorun (MnCl ₂) NAD-ME aktivliyinə təsiri	167
İnhibitorun (ATF) NAD-ME aktivliyinə təsiri	169

NADF-Malik Enzim aktivliyinin tənzim olunması.	
Kofaktorun (NADF ⁺) NADF-ME aktivliyinə təsiri	171
Aktivatorun (MnCl ₂) NADF-ME aktivliyinə təsiri	172
İnhibitorun (ATF) NADF-ME aktivliyinə təsiri	173
VI FƏSİL. BİTKİ METABOLİZMİNDƏ ARALIQ	
METABOLİTLƏRİN ROLU	175
Quraqlığın bəzi intermediatların miqdarına təsiri	175
VII FƏSİL. H⁺-NASOSLARI VƏ BUĞDA GENOTİPLƏRİNİN	
DUZADAVAMLILIĞI	181
Duz stresinin buğdanın yarpaq və köklərində KA, NAD-MDH, RBFK və H ⁺ -nasoslarının aktivliyinə təsiri	183
Duz stresinin amarantın yarpaq və köklərində KA, NAD-MDH, FEPK və H ⁺ -nasoslarının aktivliklərinə təsiri	186
YEKUN	189
ƏDƏBİYYAT SİYAHISI	193
İXTİSARLARIN SİYAHISI	240

**H.Q.BABAYEV, N.M.QULİYEV, İ.M.HÜSEYNOVA,
C.Ə.ƏLİYEV**

**C₃ VƏ C₄-BİTKİLƏRİN QURAQLIQ STRESİNƏ
FİZİOLOJİ-BİOKİMYƏVİ ADAPTASIYASI**

BAKI – "ELM" – 2019

Nəşriyyatın direktoru:
Nəşriyyat redaktoru:
Kompüter tərtibçisi:
Bədi tərtibat:

Səbuhi Qəhrəmanov
Vəfa Babayeva
Ramil Əzizov
Şəlalə Məmməd

Formatı 70x100 ¹/₁₆.
Həcmi 15,5 ç.v. Tirajı 300
Çapa imzalanmışdır: 25.07.2019
Müqavilə qiyməti ilə



Ünvan: Bakı şəh., İstiqlaliyyət küç. 28.