НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ РОСЛИН І ГЕНЕТИКИ

**ТИМОШЕНКО**

**Вячеслав Володимирович**

УДК 581.133.1:581.1.1.035.2

**ВПЛИВ ТРИВАЛОСТІ ФОТОПЕРІОДУ НА НІТРАТНИЙ ОБМІН У РОСЛИН РІЗНИХ ФОТОПЕРІОДИЧНИХ ГРУП**

03.00.12 – фізіологія рослин

**Автореферат**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата біологічних наук**

Київ-2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фізіології та біохімії рослин Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна, м. Харків.

**Науковий керівник**: кандидат біологічних наук, доцент **Жмурко Василь Васильович** Харківський національний університет ім. Каразіна

**Офіційні опоненти**: доктор біологічних наук **Швартау Віктор Валентинович** Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, завідувач відділу;

кандидат біологічних наук **Негрецький Віктор Андрійович** Інститут ботаніки ім. Холодного НАН України, старший науковий співробітник

Захист відбудеться “19” червня 2008 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.212.01 при Інституті фізіології рослин і генетики НАН України за адресою: 03022, Київ 22, ул. Васильківська, 31/17.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Інституту фізіології рослин і генетики НАН України за адресою: 03022, Київ 22, ул. Васильківська, 31/17.

Автореферат розісланий “19” травня 2008 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

доктор біологічних наук Є.Ю. Мордерер

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Нітратний обмін – основне джерело мінерального азоту для синтезу функціональних і структурних білків (Измайлов, 1986), які відіграють провідну роль у життєдіяльності рослин, зокрема, в регуляції їх росту і розвитку. Нітратний обмін у рослин досліджений досить детально. Встановлені механізми поглинання та транспорту нітратів (Ткачук, 2004), їх відновлення (Lillo et al., 2004), генетичної регуляції поглинання (Orsel et al., 2002) та відновлення нітратів (Stitt et al., 2002), впливу відновлених форм азоту (Fraisier et al., 2000; Matt et al., 2001), вуглеводів (Klein et al., 2000; Lejay et al., 1999, 2003), фітогормонів (Ткачук и др., 1991; Москалик, 2003) на ці процеси. На нітратний обмін істотно впливають фактори зовнішнього середовища, перш за все, інтенсивність освітлення і температура (Пешкова, 1998; Lejay et al., 2003). Тривалість фотоперіоду істотно впливає на метаболічні процеси у рослин, у тому числі й на азотний обмін. Показано, що у довгоденних і короткоденних рослин за сприятливих фотоперіодичних умов підвищується інтенсивність перетворення продуктів асиміляції у азотвмісні сполуки (Цыбулько, 1998). Чайлахян показав вплив нітратного живлення на перехід до цвітіння рослин різних фотоперіодичних груп (Чайлахян, 1988). Берн’є зі співавт. показали, що індукція цвітіння гірчиці одним довгим фотоперіодом за надміру нітратів у середовищі послаблюється (Бернье и др., 2002). Однак, у літературі практично відсутні дані про вплив тривалості дня на обмін нітратів у різних фотоперіодичних груп рослин. Необхідною умовою нітратного обміну рослин є його достатнє забезпечення енергією, а також вуглецевими скелетами для включення відновленого нітратного азоту (Измайлов, 1986). Проте, енергетичне та пластичне забезпечення обміну нітратів у рослин за різної тривалості фотоперіоду не досліджено. Оскільки тривалість фотоперіоду визначає темпи розвитку рослин, їх розповсюдженість по зонах вирощування, адаптивність, продуктивність і якість урожаю (Цыбулько, 1998), а нітратний обмін є одним із центральних у життєдіяльності рослин, вивчення особливостей азотного обміну у зв’язку з фотоперіодичною реакцією має вагоме наукове і прикладне значення.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана на кафедрі фізіології та біохімії рослин Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна у відповідності з темою науково-дослідної роботи „Закономірності фізіолого-біохімічної та структурно-функціональної адаптації біологічних систем до факторів середовища в онтогенезі”, номер державної реєстрації 0103U005743.

**Мета і завдання досліджень.** Мета роботи – вивчити вплив тривалості фотоперіоду на нітратний обмін та його енергетичне забезпечення у листках довгоденних, короткоденних та фотоперіодично нейтральних рослин.

Для досягнення мети були поставлені задачі дослідити у довгоденних, короткоденних та фотоперіодично нейтральних рослин за різного фотоперіоду:

1) динаміку вмісту нітратів у фотоперіодичному циклі;

2) нітратредуктазну активність (НРА);

3) фотохімічну активність хлоропластів (ФХА) та вміст хлорофілу;

4) вміст НАДФ(Н) та НАД(Н) у світловий період.

**Об’єкт дослідження:** рослини з різною реакцією на тривалість фотоперіоду.

**Предмет дослідження:** нітратний обмін у зв’язку з темпами розвитку рослин різних фотоперіодичних груп за різної тривалості дня.

**Методи досліджень** – біохімічні, потенціометричні, спектрофотометричні, статистичні, методи польового та вегетаційного досліду.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше досліджено динаміку вмісту нітратів у фотоперіодичному циклі, нітратредуктазну активність, фотохімічну активність хлоропластів та вміст НАДФ(Н) та НАД(Н) у довгоденних, короткоденних та фотоперіодично нейтральних рослин. Показано, що інтенсивність обміну нітратів, фотохімічна активність хлоропластів, окиснення НАДФН та НАДН у довгоденних і короткоденних рослин за сприятливих фотоперіодичних умов вищі, ніж за несприятливих фотоперіодичних умов. У фотоперіодично нейтральних рослин на короткому дні ці процеси за характером подібні до їх змін у короткоденних рослин. Сформульоване нове положення про те, що за сприятливих фотоперіодичних умов у довгоденних і короткоденних рослин інтенсивний нітратний обмін та його достатнє енергетичне забезпечення є вагомою умовою достатнього постачання відновленим азотом синтезу білка. Це сприяє посиленню азотного обміну, що є одним з вагомих факторів, які обумовлюють більш ранній перехід рослин до цвітіння за сприятливої тривалості дня, ніж за несприятливої. У фотоперіодично нейтральних рослин, які не змінюють темпів розвитку за різного фотоперіоду, інтенсивність обміну нітратів на довгому дні достатня для забезпечення білкового обміну, а більш висока її інтенсивність на короткому дні забезпечує такий рівень обміну білку, який дозволяє їм нормально розвиватися за цих умов.

**Наукове та практичне значення одержаних результатів.** Результати дослідження істотно доповнюють і розширюють існуючі уявлення про роль азотного обміну у фотоперіодичній реакції рослин. Доведено, що тривалість фотоперіоду є одним з визначальних зовнішніх факторів поглинання та редукції нітратів, та енергетичного їх забезпечення. Показано, що обмін нітратів – одна з вагомих складових метаболічної регуляції темпів розвитку рослин за різного фотоперіоду, бо він визначає рівень забезпечення мінеральним азотом білкового обміну. Характер цього процесу зумовлює швидкість розвитку рослин, що, у кінцевому рахунку, проявляється у зміні темпів їх переходу до цвітіння.

Одержані результати можуть бути враховані у системах удобрення с.-г. рослин у різних агроекологічних зонах, оскільки рівень обміну нітратів залежить від тривалості дня, яка у різних зонах вирощування є різною. Науковий доробок використовується при читанні спеціальних курсів з фізіології рослин та мінерального живлення, лабораторних роботах з курсу підготовки бакалаврів та магістрів кафедри фізіології та біохімії рослин Харківського національного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертант самостійно опрацював літературу за темою дисертації, обґрунтував мету і задачі досліджень, спланував експерименти, оволодів необхідними методами, виконав дослідження і статистично обробив їх результати. За участю наукового керівника проаналізував отримані результати та підготував наукові публікації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи були представлені на VIII Українському біохімічному з’їзді (Чернівці, 1-3 жовтня 2002), IX конференції молодих дослідників “Актуальні проблеми фізіології, генетики та біотехнології рослин і ґрунтових мікроорганізмів” (Київ, 24-25 лютого 2005), Всеукраїнській науково-практичній конференції “Сучасні проблеми фізіології та інтродукції рослин” (Дніпропетровськ, 5-6 квітня 2005), семінарі молодих учених, аспірантів і студентів (Харків, 5-6 жовтня 2005), ІІ Міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів “Молодь і поступ біології” (Львів, 21-24 березня 2006), ХІІ з’їзді українського ботанічного товариства (Одеса, 15-18 травня 2006), І міжнародній конференції молодих учених “Біологія: від молекули до біосфери” (Харків, 21-23 листопада 2006).

**Публікації.** Матеріали дисертації опубліковані у 12 працях, у тому числі 5 статей у фахових виданнях.

**Структура дисертації.** Дисертація складається зі вступу, шести розділів, узагальнень, висновків, списку використаних джерел. Робота викладена на 150 сторінках, ілюстрована 16 таблицями і 22 рисунками. Список використаних джерел містить 219 найменувань, у тому числі 138 найменувань латиницею.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ**

**Огляд літератури.** В розділі узагальнені і проаналізовані сучасні уявлення про механізми поглинання та відновлення нітратів у рослин, шляхи регуляції цих процесів, вплив на поглинання та відновлення нітратів факторів середовища, а також про азотний обмін та фотосинтез у довгоденних і короткоденних рослин за різної тривалості дня. Обґрунтована доцільність дослідження обміну нітратів та його енергетичного забезпечення у довгоденних, короткоденних та фотоперіодично нейтральних рослин у зв’язку з темпами розвитку за різної тривалості фотоперіоду.

**Матеріали, умови і методи проведення досліджень.**

У дослідах використані: довгоденні рослини (ДДР) – овес посівний (*Avena sativa L.*), сорт Мирний і ярий ріпак Миколаївський місцевий (*Brassica napus var. oleifera L.*); короткоденна рослина (КДР) – просо (*Panicum miliaceum L.*), сорт Харківське кормове, фотопериодично нейтральна рослина (ФНР) – просо К 3218, ізогенні за генами ЕЕ лінії сої (*Glycine max, /L./Merr.*) сортів Harosoy та Clark з короткоденною (ЕЕ) та фотоперіодично нейтральною (ее) реакцією.

Польові досліди проводили на експериментальній ділянці кафедри фізіології та біохімії рослин Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна у ботанічному саду університету (м. Харків). Ґрунт дослідної ділянки – чорнозем опідзолений важкосуглинковий (Гринь, 1955); рН водний ґрунту – 6,7, вміст гумусу – 3, 7%, вміст NO3- – 41,16 мг/кг ґрунту, валовий вміст азоту – 0,21%, фосфору – 0,12%, калію – 2,8%, азоту, що легко гідролізується – 3,8 мг/100 г ґрунту. Від сходів до фази третього листка рослини вирощували на природному довгому дні (близько 16 годин на широті Харкова). Потім одну частину рослин піддавали дії короткого (10-годинного) фотоперіоду, а іншу продовжували вирощувати на довгому. Фотоперіод скорочували, затемнюючи рослини світлонепроникними камерами з 18 до 8 години. Завдяки наявності системи отворів у камерах підтримувався належний газообмін, коливання температур назовні та всередині камер складало 1-2 °С.

У факторостатній камері рослини вирощували у ґрунтовій культурі у 2-літрових вегетаційних посудинах, по 10-15 рослин на посудину, у 4-5 разовій повторності. Ґрунт –чорнозем у співвідношенні 3:1 з піском. Впродовж двох-трьох тижнів після сходів рослини вирощували на 16-годинному освітленні, потім одну частину із них переводили на 10-годинне освітлення, а іншу – продовжували вирощувати на 16-годинному. Інтенсивність освітлення складала 18-20 клк, температура – 22-25 °С вдень та18-20°С вночі.

Для біохімічних аналізів відбирали другий-третій листок від верхівки, у різні години доби, водночас на довгому та короткому дні. Час відбору проб вказаний на рисунках та у таблицях до відповідних розділів. Активність нітратредуктази (К.Ф. 1.6.6.1-1.6.6.3), фотохімічну активність хлоропластів, вміст НАДФ(Н) і НАД(Н) визначали у нефіксованих листках, а вміст нітратів та хлорофілу – у фіксованому матеріалі. Вміст нітратів визначали за Починком-Гриссом, нітратредуктазну активність – in vivo методом Мульдера(Методы биохимического исследования растений, 1972), фотохімічну активність хлоропластів – спектрофотометричним методом з гексаціано(ІІІ)фератом калію, вміст хлорофілу – за Mac-Kinney, (Гавриленко и др., 1975), вміст НАДФ(Н) і НАД(Н) – за Слайтером у модифікації Телепньової (Методы биохимических исследований, 1982). Експериментальні дані оброблені статистично за критерієм Ст’юдента (Доспехов, 1985). У таблицях та на рисунках наведені середні з визначень та їх похибки.

**Результати досліджень та їх обговорення. Динаміка вмісту нітратів у фотоперіодичному циклі.** Темпи розвитку довгоденних і короткоденних рослин визначаються співвідношенням тривалості світлового і темнового періодів у добовому циклі (Чайлахян, 1988). Згідно Цибулько (1998), інтенсивність накопичення продуктів асиміляції, переважно вуглеводів, їх перетворення та відтікання до меристем зростає у довгоденних рослин в умовах довгого дня та короткої ночі, а у короткоденних рослин, навпаки, в умовах короткого дня та довгої ночі. Це дало підстави припустити, що і вміст нітратів змінюється у фотоперіодичному циклі. Тому ми вивчали динаміку вмісту нітратів та сумарне їх накопичення за світловий період і зміну вмісту за темновий період довгоденного і короткоденного фотоперіодичного циклу.

Зазначимо, що вміст нітратів у довгоденних рослин у всі години визначення фотоперіодичного циклу, а у короткоденних та фотоперіодично нейтральних – у вранішні години, на короткому дні був вищим, ніж на довгому.

**Зміна вмісту нітратів у світловий період.** Результати вегетаційних і польових дослідів показали зниження вмісту нітратів у листках всіх досліджуваних рослин в денні години (1500), порівняно з їх вмістом у вранішні години (1000), за обох фотоперіодів.

Більш інтенсивним це зниження було у довгоденного вівса на довгому, а у короткоденного та фотоперіодично нейтрального проса – на короткому дні (рис.1).

**Зміна сумарного вмісту нітратів за світловий період.** Листки для аналізів фіксували на початку світлового періоду (вранці) і в кінці (ввечері) в умовах польового досліду. Результати показали, що впродовж світлового періоду у довгоденного вівса відбувалося зниження вмісту нітратного азоту як на довгому, так і на короткому дні. Однак більш істотним воно було в умовах короткого фотоперіоду. У короткоденного та фотоперіодично нейтрального проса впродовж світлового періоду на довгому дні відбувалося накопичення нітратів, в той час, як на короткому дні їх вміст знижувався (рис.2).

Результати визначення зміни вмісту нітратів у довгоденного ріпаку, короткоденних та фотоперіодично нейтральних ізогенних ліній сої сортів Harosoy та Clark були подібними до результатів, одержаних у дослідах з довгоденним вівсом, короткоденним та фотоперіодично нейтральним просом.

Сумарне накопичення нітратів за світловий період, вірогідно, може “маскувати” його можливі зміни протягом дня. Тому ми вивчали і денну динаміку вмісту нітратів.

**Визначення денної динаміки вмісту нітратів** показало, що у ДДР вівса в умовах довгого дня з 8 до 13 години відбувалося більш інтенсивне зниження вмісту нітратів, а з 15 до 18 години – більш інтенсивне їх накопичення, ніж на короткому дні (рис.3).

У КДР та ФНР проса в умовах короткого дня вміст нітратів знижувався протягом всього світлового періоду, але найбільш інтенсивно з 8 до 13 години. На довгому дні вміст нітратів з 8 до 13 години дещо знижувався, а потім – до 18 години зростав (рис.3).

Таким чином, сприятливі фотоперіодичні умови зумовлюють більш інтенсивне зниження вмісту нітратів у ДДР та КДР, що може бути пов’язане з посиленим їх відновленням та включенням у біосинтетичні процеси, інтенсивність яких за цих умов зростає (Цыбулько, 1998).

Односпрямований характер змін вмісту нітратів у КДР та ФНР може бути пов’язаний з тим, що у ФНР метаболічні процеси відбуваються в умовах короткого дня як у КДР (Альдал'ін, 2006). Це може бути пов’язане зі здатністю ФНР інтенсифікувати метаболічні процеси, в тому числі обмін нітратів, при скороченні світлового періоду.

**Зміна вмісту нітратів за темновий період.** Листки для аналізів фіксували на початку темнового періоду (ввечері) та у його кінці (вранці) за обох фотоперіодів. Результати показали, що у ДДР вівса протягом ночі вміст нітратів зростав за обох фотоперіодичних циклів, проте більшою мірою у короткоденному циклі (рис.4). У КДР та ФНР проса протягом ночі в умовах короткоденного циклу відбувалось підвищення вмісту нітратів, а в умовах довгоденного циклу – зниження їх вмісту (рис.4). Подібні дані одержані нами і у дослідах з ДДР ріпаком, КДР та ФНР ізогенними лініями сої сортів Harosoy та Clark. Тобто, за більш тривалий темновий період короткоденного циклу вміст нітратів зростає у всіх фотоперіодичних груп рослин. Однією з причин цього може бути подовження періоду їх поглинання при зниженому рівні відновлення (Kaiser et al., Matt et al., 2001).

Зростання вмісту нітратів у ДДР протягом ночі короткоденного циклу, може бути пов’язане ще й зі зниженням рівня енергетичного та пластичного забезпечення редукції нітратів та включення відновленого азоту у метаболізм, ніж у довгоденному циклі (Цыбулько, 1998).

У КДР більший вміст нітратів протягом тривалого темнового періоду короткоденного циклу може бути пов’язаний із перевагою їх поглинання і транспорту над відновленням і включенням у метаболізм. Вірогідно, це пов’язане з більш інтенсивним використанням нітратного азоту у біосинтетичних процесах у світловий період короткоденного циклу, коли, за нашими даними, вміст нітратів значно знижується. Зниження вмісту нітратного азоту у листках КДР протягом короткої ночі в умовах довгоденного циклу може бути пов’язане із недостатнім забезпеченням процесу поглинання нітратів енергетичними еквівалентами, або, навіть, виходом нітратів із рослини за несприятливого фотоперіоду (Воробьев, 1988; BenDriss Amraoui, 2000). Причини зміни вмісту нітратів у ФНР, на нашу думку, такі ж, як і у КДР.

**Нітратредуктазна активність.** Результати вегетаційних та польових дослідів показали, що у ДДР вівса нітратредуктазна активність була більшою на довгому, а у КДР та ФНР проса – на короткому дні, як у вранішні (1000) так і у денні (1500) години (рис.5).

Результати визначення нітратредуктазної активності у довгоденного ріпаку, короткоденних та фотоперіодично нейтральних ізогенних ліній сої сорту Clark були подібними до результатів, одержаних у дослідах з ДДР вівсом, КДР та ФНР просом.

На нашу думку, більш висока нітратредуктазна активність у довгоденних рослин – на довгому, а у короткоденних – на короткому дні, може бути пов’язана з тим, що у цих рослин, як показано Аксеновою та ін. (1973), Кахнович (1980), Цыбулько (1998), за сприятливих фотоперіодичних умов перебіг метаболічних процесів є більш інтенсивним, ніж за несприятливих. В результаті цього, у цих рослин за сприятливої тривалості дня синтезується достатня кількість вуглеводів і, вірогідно, органічних кислот, що забезпечує високий рівень відновлення нітратів та інтенсивне утворення амінокислот, білків і інших азотвмісних сполук. Підвищена нітратредуктазна активність у ФНР на короткому дні може обумовлюватись зростанням у них інтенсивності вуглеводного обміну за цих умов (Альдал'ін, 2006).

**Фотохімічна активність хлоропластів.** У ряді робіт показано, що на відновлення нітрат-йону використовується близько 20% енергії, яка генерується під час фотосинтезу, тобто цей процес на світлі у енергетичному відношенні є другим за важливістю фотоендергонічним процесом у рослині (Павлова та ін., 1994, Larsson et al., 1982). Тому ми вивчали один із найважливіших показників фотохімічної активності хлоропластів (ФХА) – реакцію Хілла.

Отримані результати показали, що у довгоденного вівса у вранішні (1000) та денні (1500) години у вегетаційних, та у вранішні години у польових дослідах, швидкість реакції Хілла була більшою в умовах довгого, а у короткоденного та фотоперіодично нейтрального проса – в умовах короткого дня (рис.6). За польових умовФХА хлоропластів визначали такожу короткоденних та фотоперіодично нейтральних ізогенних ліній сої сорту Clark. Одержані щодо них результати були подібними до результатів, одержаних у дослідах з короткоденним та фотоперіодично нейтральним просом.

На нашу думку, більш висока фотохімічна активність хлоропластів у довгоденних рослин на довгому, а у короткоденних – на короткому фотоперіоді свідчить про більшу інтенсивністю біосинтетичних процесів за цих умов (Крекуле, Махчкова, 2002; Берн’є та ін.2002). Вірогідно, що більша фотохімічна активність хлоропластів у довгоденних та короткоденних рослин за цих умов сприяє кращому енергетичному забезпеченню процесу відновлення нітратів.

Можна припустити, що підвищена ФХА у фотоперіодично нейтральних рослин на короткому дні, як і у короткоденних, може бути пов’язана з підвищеною інтенсивністю накопичення вуглеводів (Альдал'ін, 2006).

**Вміст хлорофілу.** Вміст фотосинтетичних пігментів у листку є одним із важливих показників стану фотосинтетичного апарату за різних екологічних умов вирощування (Кочубей, 2001; Шадчина та ін., 2006).

Результати показали, що у довгоденного вівса вміст хлорофілу *а* та сума хлорофілів були вищими на довгому дні, тоді як у короткоденного та фотоперіодично нейтрального проса – на короткому дні. Вплив тривалості дня на вміст хлорофілу *в* у листках досліджуваних рослин не виявлений, що може бути пов’язане з його допоміжною роллю у первинних фотосинтетичних процесах.

**Вміст НАДФ(Н) та НАД(Н) у рослинах за різної тривалості дня.** Відомо, що НАДФН та НАДН безпосередньо приймають участь у енергетичному забезпеченні відновлення нітратів (Измайлов, 1986). Тому, ми визначали вміст НАДФ(Н) та НАД(Н) у листках рослин за різного фотоперіоду.

**Визначення вмісту НАДФ(Н)** у вегетаційному досліді показало,що у вівса у вранішні (1000) та денні (1500) години (табл.1) більший вміст НАДФ+, менший – НАДФН, та більш високе співвідношення НАДФ+/НАДФН було на довгому, а КДР та ФНР проса – на короткому фотоперіоді.

**Визначення вмісту НАД(Н)** у факторостатних умовах показало, що у ДДР вівса у вранішні (1000) і денні (1500) години більший вміст НАД+, менший – НАДН, та більш високе співвідношення НАД+/НАДН були на довгому, а у КДР та ФНР проса – на короткому дні (табл.2).

Польові досліди підтвердили закономірність, отриману у вегетаційних. Однак, вміст НАДФ(Н) та НАД(Н) у польових умовах був дещо вищим, ніж у факторостатних, що може бути пов’язане з вищою інтенсивністю та іншим спектральним складом світла у польових умовах.

**Узагальнення.** У довгоденних та короткоденних рослин за сприятливих для їх розвитку фотоперіодичних умов інтенсивність відновлення нітратного азоту є більш високою, ніж за несприятливих. Цьому відповідають більш високі активності НРА, ФХА хлоропластів, інтенсивність окиснення НАДФН та НАДН. Одержані результати дозволяють вважати, що нітратний обмін у ДДР і КДР за сприятливої тривалості фотоперіоду достатньою мірою забезпечений енергією та пластичним матеріалом, що зумовлює більш високу його інтенсивність, ніж за несприятливих фотоперіодичних умов. На нашу думку, зв'язок нітратного обміну з фотоперіодичною реакцією рослин може полягати у наступному. Оскільки за сприятливих фотоперіодичних умов обмін нітратів відбувається з більшою інтенсивністю, то це може покращувати забезпечення мінеральним азотом синтезу функціональних і структурних білків. У результаті, процеси життєдіяльності за сприятливих фотоперіодичних умов відбуваються інтенсивніше і рослини швидше переходять до цвітіння.

У ФНР, як і у КДР більша інтенсивність обміну нітратів, поряд з підвищеною НРА, ФХА, окисненням НАДФН та НАДН виявлена на короткому дні. За цих же умов у ФНР встановлене більш високе накопичення і відтікання вуглеводів (Альдал'ін, 2006). Вірогідно, що інтенсифікація цих процесів за скорочення фотоперіоду у ФНР є важливою умовою достатнього забезпечення обміну білка мінеральним азотом, що не призводить до його зниження, а відтак і до затримки розвитку за цих умов.

**ВИСНОВКИ**

1. Встановлено інтенсивне зниження вмісту нітратів у довгоденних та короткоденних рослин за сприятливої тривалості дня, а у фотоперіодично нейтральних рослин на короткому дні, як у вегетаційних, так і у польових дослідах, що пов’язане з посиленням відновлення нітратів за цих умов.
2. Більший вміст нітратів протягом світлового періоду у довгоденних рослин виявлений на короткому дні, що, вірогідно, свідчить про інгібування їх відновлення за несприятливого для розвитку фотоперіоду.
3. У довгоденних рослин показане зростання вмісту нітратів протягом темнового періоду довгоденного циклу, що може бути обумовлене підвищенням їх поглинання за сприятливого фотоперіоду.
4. У короткоденних та фотоперіодично нейтральних рослин вміст нітратів у темновий період короткоденного циклу зростав, що може бути пов’язане з посиленням їх поглинання за цих умов.
5. Характер зміни вмісту нітратів у фотоперіодичному циклі у листках довгоденних і короткоденних рослин за сприятливих фотоперіодичних умов свідчить про підвищення інтенсивності нітратного обміну.
6. Встановлений підвищений рівень НРА, ФХА, більш інтенсивне окиснення НАДФН і НАДН, а також зростання вмісту хлорофілу *а* у довгоденних рослин на довгому, а у короткоденних і фотоперіодично нейтральних – на короткому дні, за вегетаційних та польових дослідів, свідчить про інтенсивніше протікання цих процесів у довгоденних та короткоденних рослин за сприятливої тривалості дня, а у фотоперіодично нейтральних рослин – на короткому дні.
7. Тривалість фотоперіоду, яка обумовлює прискорення розвитку довгоденних та короткоденних рослин, сприяє і посиленню відновлення нітратів та його достатньому енергетичному забезпеченню. У результаті, синтез функціонального і структурного білка достатньо забезпечений мінеральним азотом. Це обумовлює більш швидкі темпи розвитку довгоденних і короткоденних рослин, а відтак, і більш ранній їх перехід до цвітіння за сприятливої тривалості дня.
8. Підвищення інтенсивності відновлення нітратів та його енергетичного забезпечення у фотоперіодично нейтральних рослин на короткому дні, вірогідно, пов’язане зі здатністю цих рослин інтенсифікувати нітратний обмін за цих умов. Тому у них не змінюється постачання мінерального азоту для білкового обміну, що дозволяє підтримувати оптимальні темпи розвитку і не затримувати перехід до цвітіння в умовах короткого дня.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ**

1. *Жмурко В.В., Тимошенко В.В.* Влияние длины дня на содержание нитратов и нитратредуктазную активность у растений различных фотопериодических групп // Вісник Харківського нац. агр. ун-ту. Серія: Біологія. – 2005. – Вип.2(7). – С.55-61. (Дисертант визначив вміст нітратів і нітратредуктазну активність).
2. *Тимошенко В.В., Жмурко В.В.* Вплив тривалості дня на вміст хлорофілу та фотохімічну активність хлоропластів у рослин різних фотоперіодичних груп // Вісник Харківського нац. агр. ун-ту. Серія: Біологія. – 2006. – Вип.1(87). – С.71-76. (Дисертант дослідив вміст хлорофілу та фотохімічну активність хлоропластів).
3. *Тимошенко В.В., Жмурко В.В.* Влияние длины дня на суточную динамику содержания нитратов у короткодневных и фотопериодически нейтральных растений // Зб. наукових праць Луганського нац. агр. ун-ту. Серія „Біологічні науки”. – 2006. – №57(80). – С. 32-37. (Дисертантом проаналізовано вміст нітратів).
4. *Тимошенко В.В., Жмурко В.В.* Вплив тривалості дня на вміст і співвідношення НАДФ+/НАДФН у листках рослин різних фотоперіодичних груп // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія: Біологія. – 2006. – Вип.3 (№729). – С. 251-255. (Дисертантом визначено вміст та співвідношення НАДФ+ та НАДФН).
5. *Жмурко В.В., Тимошенко В.В.* Денна динаміка вмісту нітратів у листках рослин за різної тривалості фотоперіоду // Физиология и биохимия культ. растений. – 2008. – Т.40, №2. – С.171-178. (Дисертантом проаналізовано вміст нітратів).
6. *Тимошенко В.Ф., Тимошенко В.В.* Изменение нитратредуктазной активности под влиянием разных фотопериодических условий // Мат-ли VIII Українського біохімічного з’їзду. Український біохімічний журнал. – 2002. – т.74, №4б (додаток 2). – С. 143.
7. *Тимошенко В.В., Жмурко В.В., Малик М.А.* Влияние длины дня на фотохимическую активность хлоропластов у растений // Тези доп. IX конференції молодих дослідників “Актуальні проблеми фізіології, генетики та біотехнології рослин і ґрунтових мікроорганізмів”. – Київ, 2005. – С.40.
8. *Тимошенко В.В., Жмурко В.В.* Влияние длины дня на содержание нитратов и нитратредуктазную активность у растений // Мат-ли Всеукраїнської науково-практичної конференції “Сучасні проблеми фізіології та інтродукції рослин”. – Дніпропетровськ, 2005. – С. 53-54.
9. *Тимошенко В.В., Жмурко В.В.* Нічна динаміка вмісту нітратів у короткоденних і нейтральних ізогенних ліній сої за різної тривалості фотоперіоду // Мат-ли семінару молодих учених, аспірантів і студентів. – Харків, 2005. – С. 36-37.
10. *Михайлусь О*.*В., Тимошенко В.В., Жмурко В.В.* Влияние длины дня на содержание хлорофилла и фотохимическую активность хлоропластов у растений // Зб. тез II міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів “Молодь і поступ біології”. – Львів, 2006. – С. 392-393.
11. *Тимошенко В.В., Жмурко В.В.* Динаміка вмісту НАДФ+ і НАДФН у листках рослин за різної тривалості дня // Мат-ли ХІІ з’їзду Українського ботанічного товариства. – Одеса, 2006. – С. 501.
12. *Тимошенко В.В.* Вплив тривалості дня на вміст нітратів у рослин різних фотоперіодичних груп // Тези доп. І Міжнародної конференції молодих учених “ Біологія: від молекули до біосфери” – Харків, 2006. – С. 50.

**АНОТАЦІЇ**

**Тимошенко В.В. Вплив тривалості фотоперіоду на нітратний обмін у рослин різних фотоперіодичних груп.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.12 – фізіологія рослин – Інститут фізіології рослин і генетики НАН України, Київ, 2008. Дисертація присвячена вивченню впливу тривалості фотоперіоду на вміст нітратів, нітратредуктазну активність, фотохімічну активність хлоропластів та вміст НАДФ(Н) та НАД(Н) у рослин різних фотоперіодичних груп.

Показано, що інтенсивність обміну нітратів, фотохімічна активність хлоропластів та вміст хлорофілу *а*, окиснення НАДФН і НАДН у довгоденних і короткоденних рослин за сприятливих фотоперіодичних умов є більш високими, ніж за несприятливих. Виявлено, що у фотоперіодично нейтральних рослин на короткому дні ці процеси за характером і інтенсивністю подібні до їх змін у короткоденних рослин. Припускається, що за сприятливих фотоперіодичних умов у довгоденних і короткоденних рослин інтенсивний нітратний обмін та його достатнє енергетичне забезпечення може бути вагомим фактором достатнього постачання азоту для синтезу білка та інших азотвмісних сполук та прискорення розвитку цих рослин. Припускається, що інтенсивність обміну нітратів на довгому дні у фотоперіодично нейтральних рослин достатня для забезпечення білкового обміну, а підвищення її на короткому дні є необхідною умовою підтримання такого рівня обміну білку, який не призводить до затримки розвитку за цих умов.

**Ключові слова: Фотоперіод, обмін нітратів, нітратредуктазна активність, фотохімічна активність хлоропластів, вміст НАДФ(Н) і НАД(Н).**

**Тимошенко В.В. Влияние длины фотопериода на нитратный обмен у растений разных фотопериодических групп.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.12 – физиология растений – Институт физиологии растений и генетики НАН Украины, Киев, 2008. Диссертация посвящена изучению влияния длины фотопериода на содержание нитратов, нитратредуктазную активность, фотохимическую активность хлоропластов и содержание НАДФ(Н) та НАД(Н) у растений разных фотопериодических групп.

В исследованиях использовали длиннодневные, короткодневные и фотопериодически нейтральные растения, которые выращивали в факторостатных и полевых условиях.

Изучение влияния длины дня на содержание нитратов в листьях растений разных фотопериодических групп показало большую интенсивность снижения их содержания у длиннодневных растений на длинном, а у короткодневных – на коротком дне. Это может свидетельствовать о большей интенсивности их восстановления у длиннодневных и короткодневных растений на благоприятной длине дня.

Исследования нитратредуктазной активности, как в факторостатных, так и в полевых опытах, выявили, что в благоприятных фотопериодических условиях длиннодневные и короткодневные растения характеризуются большей интенсивностью редукции нитратов, чем в неблагоприятных. Показано, что в благоприятных фотопериодических условиях у этих растений фотосинтез, дыхание, накопление и превращение углеводов протекают более интенсивно, чем в неблагоприятных (Цыбулько, 1998), что, вероятно, может обеспечивать достаточное количество углеводов и органических кислот для восстановления нитратов.

Изучение влияния длины дня на фотохимическую активность хлоропластов показало более высокую интенсивность транспорта электронов у длиннодневных и короткодневных растений на благоприятной длине дня, т.е. у длиннодневных растений на длинном, а у короткодневных – на коротком дне, как в вегетационных, так и в полевых опытах. Содержание хлорофилла *а* у длиннодневных и короткодневных растений было также выше на благоприятной длине дня. Таким образом, структурно-функциональное состояние фотосинтетического аппарата будет благоприятствовать лучшему энергетическому обеспечению повышения биосинтетических процессов у растений на благоприятной длине дня (Цыбулько, 1998), в том числе и восстановления нитратов.

Исследование содержания НАДФ(Н) и НАД(Н) показали большее содержание НАДФ+ и НАД+ и меньшее содержание НАДФН и НАДН у длиннодневных растений на длинном, а у короткодневных – на коротком дне, что свидетельствует о более высокой интенсивности их использования в метаболических процессах, в том числе в восстановлении нитратов в благоприятных фотопериодических условиях.

Таким образом, у длиннодневных и короткодневных растений в благоприятных фотопериодических условиях повышение интенсивности восстановления нитратов достаточно обеспечено энергией, что способствует лучшему обеспечению азотом синтеза функциональных и структурных белков, и ускорению темпов развития в этих условиях.

У фотопериодически нейтральных растений изменение содержания нитратов, нитратредуктазной активности, фотохимической активности хлоропластов, содержания хлорофилла, степени окисленности НАДФН и НАДН под влиянием разной длины дня по характеру и интенсивности подобны их изменению у короткодневных растений. Вероятно, что усиление нитратного обмена и его энергетического обеспечения у фотопериодически нейтральных растений на коротком дне является важным фактором, который позволяем им не изменять темпов развития при сокращении светового периода. Высокая интенсивность нитратного обмена и его достаточное энергетическое обеспечение у фотопериодически нейтральных растений в условиях короткого дня может обуславливать синтез достаточного количества азотсодержащих соединений и, в первую очередь, белков, для протекания морфогенетических процессов, что проявляется в способности этих растений не задерживать переход к репродуктивному развитию на коротком дне.

**Ключевые слова: Фотопериод, обмен нитратов, нитратредуктазная активность, фотохимическая активность хлоропластов, содержание НАДФ(Н) и НАД(Н).**

**Timoshenko V.V. The influence of the duration of photoperiod on the nitrate exchange in different photoperiodic group of plants.** – Manuscript.

Thesis for Ph. D. Degree by speciality 03.00.12 – plant physiology – Institute of plant physiology and genetics, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2008.

The dissertation is devoted to the study of the photoperiod duration influence on the nitrate content, nitrate reductase activity, photochemical activity in chloroplasts, NADP(H) and NAD(H) content in different photoperiodic group of plants.

The increasing of nitrate exchange intensity, photochemical activity in chloroplasts, NADPH and NADH oxidizing in long day plants and short day plants in favorable photoperiodic conditions were revealed. It was shown, that character and intensity of all these processes in neutral plants on the short day are similar to their character and intensity in short day plants. Thesis, that intensive nitrate exchange and its sufficient energetic supply at long and short day plants in favorable photoperiodic conditions are important factors of protein synthesis nitrogen sufficient supply and accelerating of plant development has been formulated. It is proposed, that nitrate exchange intensity in neutral plants on the long day is sufficient for protein exchange supply and its increasing on the short day is necessary for support of such protein exchange level, which does not delay plant development in these conditions.

**Key words: Photoperiod, nitrate exchange, nitrate reductase activity, photochemical activity of chloroplasts, NADP(H) and NAD(H) content.**