

УДК: 581.1.035.2

**ВПЛИВ ТРИВАЛОСТІ ДНЯ НА ВМІСТ І СПІВВІДНОШЕННЯ НАДФ⁺/НАДФН У ЛИСТКАХ
РОСЛИН РІЗНИХ ФОТОПЕРІОДИЧНИХ ГРУП
В.В.Тимошенко, В.В.Жмурко**

*Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна (Харків, Україна)
Vasily.V.Zhmurko@univer.kharkov.ua*

Вивчали вплив тривалості дня на вміст НАДФ(Н) у листках довгоденних, короткоденних та фотоперіодично нейтральних рослин. Вміст окисненого НАДФ був вищим, а відновленого – нижчим у довгоденних рослин на довгому, а у короткоденних та фотоперіодично нейтральних рослин на короткому дні. Припускається, що за сприятливих фотоперіодичних умов відбувається оптимізація процесів окиснення та відновлення піридинових нуклеотидфосфатів. Це зумовлює достатню забезпеченість енергією процесів синтезу, перетворення та відтікання асимілятів, що виражається у прискоренні переходу рослин до цвітіння у сприятливих фотоперіодичних умовах.

Ключові слова: *фотоперіод, піридинові нуклеотидфосфати, Avena sativa L., Panicum miliaceum L.*

Список скорочень: ДДР – довгоденні рослини, КДР – короткоденні рослини, ФНР – фотоперіодично нейтральні рослини.

Вступ

Достатнє енергетичне забезпечення, у тому числі вміст та співвідношення піридинових нуклеотидфосфатів, відіграє значну роль у протіканні процесів метаболізму у рослин. НАДФН є джерелом енергії, що забезпечує перш за все процеси синтезу, насамперед синтез вуглеводів у циклі Кальвіну, а також багато інших біосинтетичних процесів рослинного організму (Гудвін, Мерсер, 1986). Що стосується впливу тривалості дня на активність метаболічних процесів, то було показано, що у сприятливих фотоперіодичних умовах у рослин інтенсифікується накопичення, перетворення та відтікання продуктів асиміляції до точок росту (Цыбулько, 1998). Нами було показано (Жмурко, Тимошенко, 2005), що інтенсивність відновлення нітратів пов'язана з реакцією рослин на тривалість дня. Відомо, що процес відновлення нітратів протікає за участю НАД(Ф)Н, який є донором протонів для першого його етапу (Lillo et al., 2004). Виходячи із цього, вивчення вмісту НАДФ і співвідношення його окиснених та відновлених форм важливо для поглиблення уявлень про енергетичне забезпечення метаболічних процесів у рослин у зв'язку з темпами їх розвитку за різної тривалості дня. Це і було метою наших досліджень.

Об'єкти та методи дослідження

В дослідженнях використовувались рослини трьох фотоперіодичних груп: овес посівний (*Avena sativa L.*), сорт Мирний – довгоденна рослина (ДДР), просо (*Panicum miliaceum L.*), сорт Харківське кормове – короткоденна рослина (КДР), просо К 3218 – фотоперіодично нейтральна рослина (ФНР).

Досліди проведені на кафедрі фізіології та біохімії рослин Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна.

У польових умовах рослини вирощувались за двох фотоперіодів: природному довгому (16 годин) та короткому (10 годин) дні. Від сходів протягом 2–3 тижнів рослини вирощували за 16-годинного освітлення, а потім одну частину переводили до умов 10-годинного освітлення, а іншу продовжували вирощувати за 16-годинного. Фотоперіод скорочували, затемнюючи дослідні рослини світлонепроникними камерами з 18⁰⁰ до 8⁰⁰.

У лабораторних дослідах рослини вирощувались в факторостатній камері кафедри у ґрунтовій культурі, за таких саме фотоперіодичних умов, як і у польових дослідах. Рослини освітлювали люмінесцентними лампами у комбінації з лампами розжарювання за інтенсивності освітлення 25–30 клк на обох фотоперіодах. Температурні умови вирощування – 22–25°C вдень та 18–20°C вночі.

Для біохімічних аналізів відбирали другий та третій листок від верхівки, який закінчив лінійний ріст, у один і той же час на 16-годинному і 10-годинному освітленні, в ранішні (10⁰⁰) і денні (15⁰⁰) години.

Вміст піридинових нуклеотидів у тканинах визначали за методом Слайтера у модифікації В.М.Телепньової (Методы биохимических исследований, 1982).

Всього проведено 4–8 визначень, у таблицях наведені середні та їх помилки. Для аналізів використовували реактиви українського та російського виробництва, кваліфікації ХЧ і ЧДА. Отримані результати оброблені статистично методом парного порівняння з використанням t-критерію

(Доспехов, 1973). Оцінювали істотність середньої різниці між вмістом піридинових нуклеотидфосфатів на довгому та короткому дні.

Результати

У табл. 1 наведені дані лабораторних дослідів щодо вивчення впливу тривалості дня на вміст та співвідношення піридинових нуклеотидфосфатів у трьох фотоперіодичних груп рослин за різної тривалості дня у ранішні години.

Таблиця 1.
Вплив тривалості дня на вміст і ступінь окисненості НАДФ(Н) у листках рослин різних фотоперіодичних груп, 10⁰⁰, нмоль/г сирової маси, лабораторні досліді*

Тривалість дня, години	НАДФ ⁺		НАДФН		НАДФ ⁺ /НАДФН	
	Листок від верхівки					
	2 листок	3 листок	2 листок	3 листок	2 листок	3 листок
Овес, сорт Мирний – довгоденна рослина						
16	22,61 ± 0,52	20,39 ± 0,48	9,88 ± 0,51	9,56 ± 0,49	2,29	2,13
10	20,83 ± 0,70	18,76 ± 0,30	13,84 ± 0,98	12,79 ± 0,88	1,51	1,47
	$t_{05\text{фак.}} = 7,37$		$t_{05\text{фак.}} = 5,78$			
Просо, сорт Харківське кормове – короткоденна рослина						
16	23,63 ± 1,58	21,11 ± 0,85	11,53 ± 1,05	10,45 ± 0,95	2,05	2,02
10	30,48 ± 1,04	26,90 ± 1,02	8,89 ± 0,69	7,65 ± 0,68	3,43	3,52
	$t_{05\text{фак.}} = 7,11$		$t_{05\text{фак.}} = 3,61$			
Просо К3218 – фотоперіодично нейтральна рослина						
16	22,04 ± 0,72	19,62 ± 1,00	11,83 ± 0,91	10,79 ± 0,61	1,86	1,82
10	24,86 ± 0,80	21,76 ± 1,34	10,09 ± 0,56	8,81 ± 0,37	2,46	2,47
	$t_{05\text{фак.}} = 2,75$		$t_{05\text{фак.}} = 3,08$			

*) $t_{05\text{мабл.}} = 2,37$

З даних таблиці видно, що в усіх рослин, незалежно від тривалості дня, вміст окисненого та відновленого НАДФ, а також загальна кількість піридинових нуклеотидфосфатів у другому листку від верхівки були дещо вищими, ніж у третьому. Вміст піридинових нуклеотидфосфатів у листках проса був вищим, ніж у листках вівса. Крім того, у рослин всіх фотоперіодичних груп вміст НАДФ(Н) був дещо вищим в умовах короткого дня, ніж в умовах довгого.

Аналіз отриманих даних показує (табл. 1), що фотоперіодичні умови вирощування значно впливають на вміст НАДФ⁺ та НАДФН.

Так, у ДДР вівса на сприятливому для його розвитку довгому дні вміст НАДФ⁺ був вищим, а НАДФН – нижчим, ніж на короткому, як у другому, так і у третьому листку. У КДР та ФНР проса більш високий вміст окисненого НАДФ, поряд з меншим вмістом його відновленої форми, був в умовах короткого дня.

У табл. 1 представлені також дані щодо співвідношення окиснених форм НАДФ до їх відновлених форм, яке свідчить про інтенсивність використання НАДФ у метаболічних процесах. Співвідношення НАДФ/НАДФН у досліджуваних рослин (табл. 1), вказує на більш високий ступінь окисненості НАДФ у другому листку від верхівки, ніж у третьому, що свідчить про більшу інтенсивність метаболічних процесів у фізіологічно молодшому листку. Дані, представлені у табл. 1, свідчать про різний ступінь окисненості піридинових нуклеотидфосфатів у рослин за різної тривалості дня. Так, у довгоденного вівса більш високі показники співвідношення НАДФ⁺/НАДФН були на довгому, а у КДР та ФНР проса – на короткому дні.

Результати дослідів, проведених у польових умовах, наведені у табл. 2. Визначення вмісту НАДФ проводили у другому листку від верхівки, о 10 та о 15 години, маючи на увазі встановити можливу денну динаміку його вмісту.

Таблиця 2.

Зміна вмісту і ступеня окисненості НАДФ(Н) протягом світлового періоду у листках фотоперіодичних груп рослин під впливом різної тривалості дня, нмоль/г сирої маси, польові досліді

Тривалість дня, години	НАДФ ⁺		НАДФН		НАДФ ⁺ /НАДФН	
	Години дня					
	10 ⁰⁰	15 ⁰⁰	10 ⁰⁰	15 ⁰⁰	10 ⁰⁰	15 ⁰⁰
Овес, сорт Мирний – довгоденна рослина**						
16*	29,69 ± 0,91	7,98 ± 1,01	12,27 ± 0,86	33,44 ± 1,74	2,42	0,24
10	25,90 ± 0,54	7,59 ± 0,97	16,65 ± 0,88	34,77 ± 2,09	1,56	0,22
	t _{05фак.} = 4,37	t _{05фак.} = 0,61	t _{05фак.} = 3,74	t _{05фак.} = 0,56		
Просо, сорт Харківське кормове – короткоденна рослина**						
16	31,18 ± 1,51	15,79 ± 0,41	14,85 ± 0,81	31,80 ± 0,59	2,10	0,50
10	39,38 ± 1,83	18,45 ± 0,38	10,79 ± 0,81	29,38 ± 0,38	3,65	0,63
	t _{05фак.} = 3,19	t _{05фак.} = 8,18	t _{05фак.} = 4,46	t _{05фак.} = 5,40		
Просо К3218 – фотоперіодично нейтральна рослина***						
16	32,04 ± 1,26	15,27 ± 0,74	18,81 ± 1,49	33,18 ± 1,20	1,70	0,46
10	34,07 ± 1,61	17,40 ± 0,71	13,50 ± 1,34	31,20 ± 1,24	2,52	0,56
	t _{05фак.} = 1,81	t _{05фак.} = 1,95	t _{05фак.} = 2,78	t _{05фак.} = 1,64		

*) природний день

**) t_{05табл.} = 3,18

***) t_{05табл.} = 2,57

Одержані результати показали, що у польових умовах вміст НАДФ(Н) був вищим, ніж в умовах факторостатної камери (див. табл. 1), як на довгому, так і на короткому дні. Зазначимо також, що у рослин в умовах польового досліді більш високий вміст окисненого НАДФ порівняно з його відновленою формою був о 10 годині. О 15 годині переважно більшість загального НАДФ, навпаки, складала відновлена форма. При цьому вміст окисненого НАДФ у обох форм проса був значно більшим, ніж у вівса.

Порівняння вмісту піридинових нуклеотидфосфатів у рослин, вирощених у польових умовах, показує, що він вищий у обох форм проса, ніж у вівса. Ці результати аналогічні отриманим у лабораторних дослідіах.

Аналіз впливу тривалості дня на вміст різних форм НАДФ в умовах польового досліді показав (табл. 2) більшу кількість окисненого НАДФ та меншу кількість його відновленої форми у листках вівса в ранішні години в умовах довгого дня. У денні години різниця у вмісті цих форм піридинових нуклеотидфосфатів в умовах різної тривалості дня була несуттєвою. У КДР проса у ранішні та денні години більший вміст НАДФ⁺ і менший НАДФН були в умовах короткого фотоперіоду. У ФНР проса у ранішні години вміст НАДФ⁺ був несуттєво вищим, а НАДФН – нижчим в умовах короткого дня. Вдень окисненої форми НАДФ було несуттєво більше на короткому дні, тоді як рівень НАДФН був дещо вищим в умовах довгого дня.

У табл. 2 представлено також співвідношення окиснених і відновлених форм НАДФ у польових умовах протягом дня.

Із даних таблиці видно, що о 10 годині більшість відновлювальних еквівалентів знаходилось у окисненій формі, тоді як вдень переважно більшість НАДФ складала відновлена форма, про що свідчать низькі рівні відношення НАДФ⁺ до НАДФН.

Отже, одержані результати показали, що у довгоденного вівса вищий вміст окисненого НАДФ та більш низький вміст його відновленої форми був в умовах довгого, а у короткоденного та фотоперіодично нейтрального проса – короткого дня.

Обговорення результатів

Більш високий рівень піридинових нуклеотидфосфатів, а також більший ступінь їх окиснення у других листках від верхівки, ніж у третіх, вірогідно, пов'язані з віковим контролем метаболічних процесів у рослин. Відомо, що для більш молодих органів рослин характерні і більш інтенсивні метаболічні процеси, що у наших дослідах проявилось у інтенсивнішому використанні піридинових нуклеотидфосфатів фізіологічно молодшими листками другого ярусу. Про це свідчить вища кількість окиснених форм НАДФ, а також більш високе співвідношення НАДФ⁺/НАДФН у листках другого ярусу, ніж у третього.

Значна перевага вмісту окисненої форми НАДФ над її відновленою формою у ранішні години може вказувати на інтенсивне використання піридинових нуклеотидфосфатів у біосинтетичних процесах, що поряд з їх відновленням у первинних фотосинтетичних реакціях свідчить про інтенсивний хід метаболічних процесів у рослинах за цих умов (Muto, Miyachi, 1981). Вдень, внаслідок закриття продихів з причини надмірної транспірації у жаркі полуденні години, надходження CO₂ у листки затримується, що зумовлює зниження інтенсивності утворення асимілятів у циклі Кальвіна і зменшення рівня окиснення НАДФН. Тому о 15 годині переважну більшість НАДФ у листках складала відновлена форма (табл. 2).

Більш високий загальний вміст НАДФ у проса у лабораторних дослідах та окисненого НАДФ вдень у польових дослідах, ніж у вівса, вірогідно, можуть бути пов'язані з відмінностями між цими рослинами за типом фіксації CO₂ у процесі фотосинтезу (Едвардс, Уокер, 1986). Просо відноситься до C₄-рослин, а овес – до C₃-рослин. Як відомо, для C₄-рослин характерна більша інтенсивність фотосинтезу, що зумовлює більше утворення НАДФ і більше його використання у синтезах.

Таким чином, нами виявлені загальні для дослідних рослин закономірності зміни вмісту НАДФН, які відображають характер фізіолого-біохімічних процесів у рослин. Однак, за впливу різної тривалості дня, у рослин різних фотоперіодичних груп нами виявлені специфічні для кожної з них зміни у вмісті і ступені окиснення НАДФН. Більш інтенсивний синтез НАДФН, посилене його окиснення у довгоденних рослин вівса виявлено на довгому дні, а у короткоденного проса – на короткому, тобто за сприятливих для їх розвитку фотоперіодичних умов. На нашу думку, це пов'язане з наступним. У сприятливих для розвитку фотоперіодичних умовах інтенсивність синтезу вуглеводів, їх накопичення та відтікання до апікальних меристем вища, ніж у несприятливих фотоперіодичних умовах (Цыбулько, 1998). Раніш нами показано, що сприятливі фотоперіодичні умови зумовлюють підвищення активності відновлення нітратів нітратредуктазою, де використовується енергія НАД(Ф)Н (Жмурко, Тимошенко, 2005). Таким чином, посилення інтенсивності метаболічних процесів за сприятливої тривалості дня вимагає більшого використання відновлюючих еквівалентів. З цим і пов'язане збільшення кількості окисненого НАДФ та підвищення співвідношення НАДФ⁺/НАДФН у довгоденних та короткоденних рослин за сприятливих фотоперіодичних умов. Збільшення вмісту НАДФ(Н) у вівса на короткому дні може пояснюватись наявністю компенсаторних механізмів, що дозволяють довгоденним рослинам забезпечувати енергією та речовиною на певному рівні процеси життєдіяльності в умовах несприятливого короткого дня. Адаже за цих умов у ДДР також відбуваються процеси росту та розвитку, хоча і значно повільніше, ніж на довгому дні.

Той факт, що у ФНР проса під впливом короткого дня вміст і окисненість НАДФН змінюється подібно їх зміні у КДР проса, на нашу думку, може бути пов'язаний із наступним. Оскільки ФНР переходять до цвітіння одночасно на довгому і короткому дні, вірогідно, вони мають здатність пристосовувати свої метаболічні процеси до зміни тривалості фотоперіоду. Можливо, з таким пристосуванням метаболізму до умов скороченого світлового періоду пов'язаний ріст вмісту окисненого НАДФ у польових умовах та підвищення співвідношення НАДФ/НАДФН за всіх умов вирощування у цих рослин на короткому дні. Однак, це припущення вимагає подальшого експериментального обґрунтування.

Висновки

1. У більш молодих листках другого ярусу інтенсивність використання НАДФН у метаболічних процесах вища, ніж у листках третього ярусу.
2. У листках проса (C₄-рослина) вміст і ступінь окиснення НАДФН вища, ніж у вівса (C₃-рослина), що обумовлено відмінностями між ними за інтенсивністю процесу фотосинтезу.
3. Більший вміст та ступінь окиснення НАДФН у листках довгоденних рослин на довгому, а у короткоденних і фотоперіодично нейтральних рослин – на короткому дні.
4. Інтенсивність синтезу і використання НАДФН у рослин різних фотоперіодичних груп пов'язана з їх реакцією на тривалість дня. Цей зв'язок проявляється у забезпеченні енергетичними еквівалентами процесів синтезу, перетворення асимілятів у листках та їх відтікання до меристем. Інтенсивність цих процесів за сприятливого фотоперіоду вища, що зумовлює більш раннє зацвітання рослин, ніж за несприятливого фотоперіоду.

Перелік посилань

- Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. Т.1. – М., 1986. – 392с.
- Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1973. – 336с.
- Жмурко В.В., Тимошенко В.В. Влияние длины дня на содержание нитратов и нитратредуктазную активность у растений разных фотопериодических групп // Вісн. Харк. Нац. агр. ун-ту. Сер. Біол. – 2005. – Вип.7. – С. 55–61.
- Методы биохимических исследований / под ред. М.И.Прохоровой. – Ленинград: Изд. Ленингр. ун-та, 1982. – 272с.
- Цыбулько В.С. Метаболические закономерности фотопериодической реакции растений. – К.: Аграрна наука, 1998. – 187с.
- Эдвардс Дж., Уокер Д. Фотосинтез C_3 и C_4 растений: механизмы и регуляция. – М.: Мир, 1986. – 601с.
- Lillo C., Meyer C., Lea U.S. et al. Mechanism and importance of post-translational regulation of nitrate reductase // J. Exp. Bot. – 2004. – Vol.55, №401. – P. 1275–1282.
- Muto S., Miyachi S. Light-induced conversion of nicotinamide adenine dinucleotide to nicotinamide adenine dinucleotide phosphate in higher plant leaves // Plant Physiol. – 1981. – Vol.68. – P. 324–328.

ВЛИЯНИЕ ДЛИНЫ ДНЯ НА СОДЕРЖАНИЕ И СООТНОШЕНИЕ НАДФ⁺/НАДФН В ЛИСТЯХ РАСТЕНИЙ РАЗНЫХ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКИХ ГРУПП**В.В.Тимошенко, В.В.Жмурко**

Изучали влияние длины дня на содержание НАДФ(Н) в листьях длиннодневных, короткодневных и фотопериодически нейтральных растений. Содержание окисленного НАДФ было выше, а восстановленного – ниже у длиннодневных растений на длинном, а у короткодневных и фотопериодически нейтральных растений на коротком дне. Предполагается, что в благоприятных фотопериодических условиях происходит оптимизация процессов окисления и восстановления пиридиновых нуклеотидфосфатов. Это определяет достаточную обеспеченность энергией процессов синтеза, превращения и оттока ассимилятов, что выражается в ускорении перехода растений к цветению в благоприятных фотопериодических условиях.

Ключевые слова: *фотопериод, пиридиновые нуклеотидфосфаты, Avena sativa L., Panicum miliaceum L.*

THE INFLUENCE OF THE DAY LENGTH ON NADP⁺/NADPH CONTENT AND CHLOROPLAST PHOTOCHEMICAL ACTIVITY IN PLANT LEAVES OF DIFFERENT PHOTOPERIODIC GROOPS**V.V.Timoshenko, V.V.Zhmurko**

The influence of the photoperiod on NADP(H) content in the long day plant, short day plant and neutral plant leaves was studied. The oxidized NADP content was higher and reduced – was lower at long day plants on the long day and short day plants and neutral plants on the short day. It is proposed that the optimization of pyridine nucleotide phosphates oxidation and reduction takes place at favourable photoperiodic conditions. This provides the accumulation, transformation and transference of assimilates with energy that expressed in promoting of plant flowering transition at favourable photoperiodic conditions.

Key words: *photoperiod, pyridine nucleotide phosphates, Avena sativa L., Panicum miliaceum L.*

**Матеріали наукової конференції біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна, присвяченої 100-річчю з дня народження Г.І.Семененка
Рекомендовано до друку П.А.Каліманом**