

7. *Ter-Avanesian D.V.* The effect of varying the number of pollen grains used in fertilization // TAG, 1978, v. 52, p. 77–79.

8. *Зайковская Н.Э.* Биология цветения, цитология и эмбриология сахарной свеклы // Биология и селекция сахарной свёклы. М.: Колос, 1968.— С. 137–206.

9. *Урбах В.Ю.* Непараметрические критерии различия // Биометрические методы (статистическая обработка опытных данных в биологии, сельском хозяйстве и медицине). М.: Наука, 1964.— С. 245–267.

10. *Белоусов Л.В.* Морфогенез, морфомеханика и геном // Вестник ВОГиС, 2009, том 13, №1.— С. 29–35.

#### **Резюме**

В работе анализируются завязываемость семян и изменчивость долей агамо-спермных семян и партенокарпических плодов в семенных партиях, получаемых при однополомном размножении сахарной свеклы за 4 года в двух смежных поколениях.

A paper presents the four-year study of the seed setting and a variability of agamospermic seeds and parthenocarpic fruits parts in seed population of two allied generation, obtained by uniparental reproduction.

**TSYGANKOVA V. A.**

*Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry, NAS of Ukraine,  
Kiev, Murmanskaya str., 1*

### **CIRCADIAN RHYTHMS OF GENE EXPRESSION AT LEAVES OF VEGETATING PLANTS**

Using DOT-blot method the degree homology of cytoplasmical mRNA populations of plant leaves from different intervals of light day according to mRNAs of dark phase was investigated.

#### **Materials and methods**

The isolation of poly(A)<sup>+</sup>RNA, obtaining cDNA and conditions of hybridization cDNA with mRNA are presented early [1].

The leaves of dicotyledonous (soya, pea) and monocotyledonous plants (wheat, corn) at ten-day period of their vegetation after initiation of seed germination, sprouting in environmental (field) standard conditions, and first of all at strong clear and weak sunshine were used as a model. The leaves were separated from plants in different periods of light day: in the early morning (at 5 a.m.) — in the period of appearance of the first rays of a sun; then in the middle of day (at 2 p.m.) — in the period of maximal sunshine and in the evening period (at 9 p.m.). All of experiments were conducted at the beginning of June, when the most optimal growth and development of plant occur. The preparations of cytoplasmical mRNA were selected from leaves and as control were the

preparations mRNA from leaves in the period of absence of lighting in the middle of night-time (at 2 a.m.).

Experiments were repeated every day consecutively during for three days, in order that the indexes of divergence of mRNA homology were not laid on due to the stage changes of mRNA populations. The degree of mRNA homology from leaves on the farther stage of plant development (over subsequent 10 days) was determined in relation to the same control preparation of mRNA for establishment of the stage distinctions.

### **Results and discussion**

The data of the conducted experiments are resulted in a table 1, from which it is ensued, that both at dicotyledonous, and at monocotyledonous plants, already with appearance of sunrays in the early morning (at 5 a.m.) there is a small decline of homology degree of mRNA in experience as compared to control (up to 91% for different plants).

To midday (at 2 p.m.) there is yet greater divergence between control (“nightly”) mRNA and mRNA from the plant leaves at powerful sunshine.

To the evening there is “fading” of photosynthetic processes by the “windmill” switching genes. The difference at mRNA populations from leaves of control plants and plants on 20-th day of vegetation after start of experiments is observed. It is interpreted, possibly, by switching on at expression particularly and other genes, providing translational processes of differentiation of plant cells on subsequent stages of their vegetation [2].

In works of E.N. Tischenko and O.V. Dubrovnoy it was showed, that following transition of sugar beet seedlings| from the etiolated state to the photomorphogenesis in the cotyledons of seedlings the approximately 2000 specific poly(A)<sup>+</sup>mRNAs appear and about 400 specific poly(A)<sup>+</sup>mRNAs disappear, i.e. there is a sharp reprogramming of genome of plant cells following transition their from the etiolated stage into morphogenesis stage. Similar results were given by authors and also on sunflower [3, 4].

The decrease of DNA content at cells of *Helianthus annuus* Linnaeus plant under influence of light was found at investigations of H. Price and J. Johnston [5].

By the present time it is known that the majority of genes in the plant cells (as and in the cells of animals) are presented by families. For example, multifamily of photomorphogenesis genes [6–8]; phospholipase C genes consist from 9 members [9]; phospholipase D gene — from 12 members [10]; patatin gene — from 70 members on tetraploidy genome *Solanum tuberosum* L. [11, 12]; genes of cell wall protein extensin — from 5 members [13]; RNases gene are presented by super- or multifamily [14] et cet.).

Each member of gene family differs from each other by microheterogeneity on a nucleotide sequence at variable part of genes and accordingly on mechanisms of their intracellular regulation [6–10]. The reflection of structural microheterogeneity in the families of genes are also mini differences in the structures of

Table 1

Percent of a homology of cytoplasmical mRNA populations from plant leaves during the different periods light (morning, day and evening) phase (experience) in relation to mRNA of dark (the middle of night) phase (control)\*

Time	Objects of investigation and variants of experiments							
	Soya bean		Pea		Wheat		Corn	
	light	over 10 days	light	over 10 days	light	over 10 days	light	over 10 days
5:00AM	95±2,2	86±1,7	97±2,1	89±1,4	91±1,6	88±1,3	94±1,5	85±2,1
2:00 PM	86±2,3	81±1,8	85±1,4	84±1,3	79±2,3	86±1,6	79±2,1	78±1,7
9:00 PM	89±1,4	78±1,3	94±1,8	86±2,1	93±1,4	88±1,8	92±1,9	87±1,4

\*Percent of cytoplasmical mRNA homology in relation to control mRNA preparation (taken for 100%) was determined for an index differences in the level of hybridization of P<sup>32</sup> cDNA with mRNA populations, which change during a day and differ by nucleotide sequence in variable part of gene structure within the limits of family. For 100% (control) the level of hybridization of P<sup>32</sup> cDNA (copies from “nightly” mRNA) is accepted with “nightly” mRNA of plant leaves (hybridization “on itself”). Error of experience is ±2% (the average data from 3 experiences are presented). Unit of dimension is the level of radioactivity in impulses at each probe.

gene products — proteins (polymorphism of reserve proteins, isoenzymes et cet.) [15, 16].

We supposed, that the variability in the structures of members of gene family, the distinctions in the mechanism of regulation of their activity and, accordingly, mini differences in the structures of the end-products of gene expression provide high mobility and plasticity of adaptive reactions of cells to the environment signals.

It is obviously that under weak promoters are variants of genes from gene families which form an answer for a weak external signal (for example, on a weak thermal, light signals, or signal of chemical nature); under promoters of moderate force are located genes, forming an answer for the signals of middle force, and under strong promoters are genes from gene families, forming the return reactions of cells on strong external or internal signals (for example, on maximal photosynthesis in the period of strong sunshine and, accordingly, strong heating).

According to this supposition the increasing of photosynthetic process occur as a result of “windmill” switching corresponding genes under weak promoters on genes with promoters of moderate force and further on genes under strong promoters in process of increase of sun activity and on the contrary following decrease of sun activity the opposite process switching genes is observed.

### Conclusions

Thus, obviously, that the presence of gene families and specific mechanisms of their regulation are provided “windmill” switching genes (under influence those or other signals), executing the same functions, but possessing microheterogeneity on nucleotides sequences and different level of activity. It provides adaptation of

plants to the varied environment and reproducing to itself similar individuals in a greater or less amount at different conditions for maintenance and saving in nature of one or another specific population of plants.

### References

1. Tsygankova V. A., Iutinskaya G. A. The investigation of degree of mRNA homology at normal plant growth and stimulated by plant growth regulators / In Factors of experimental evolution of organisms. M.I. Vavilov. Society of genetics and breeders of Ukraine.— K.: Logos, 2009.— Vol.7.— P. 74–78.
2. Galau G. A., Dure L. Developmental biochemistry of cottonseed embryogenesis and germination: changing messenger ribonucleic acid populations as shown by reciprocal heterologous complementary deoxyribonucleic acid-messenger ribonucleic acid hybridization // Biochem.— 1981.— Vol.20.— P. 4169–4178.
3. Tischenko E. N., Dubrovnaya O. V. Epigenetic regulation. The methylation of DNA of plant genes and transgenes.— K.: Logos, 2004.— 236 p.
4. Tischenko E.N., Dubrovnaya O.V., Topchiy N.M. The methylation of DNA at plant ontogenesis.— K.: Logos, 2008.— 264 p.
5. Price H.J., Johnston J.S. Influence of light on DNA content of *Helianthus annuus* Linnaeus // Proc. Natl. Acad. Sci. USA.— 1996.— Vol.93.— P. 11264–11267.
6. Argüello-Astorga G.R., Herrera-Estrella L.R. Ancestral multipartite units in light-responsive plant promoters have structural features correlating with specific photo-transduction pathways // Plant Physiol.— 1996.— Vol.112.— P. 1151–1166.
7. Neff M. M., Fankhauser C., Chory J. Light: an indicator of time and place // Genes and Develop.— 2000.— Vol.14.— P. 257–271.
8. Tsygankova V.A., Galkina L.A., Musatenko L.I., Sytnik K.M. Genetical and epigenetical control of plant growth and development. Genes of photomorphogenesis and regulation of their expression by light // Biopolymers and cell.— 2004.— Vol.20, №6.— P. 451–471.
9. Tasma I.M., Brendel V., Whitham S.A., Bhattacharyya M.K. Expression and evolution of the phosphoinositide-specific phospholipase C gene family in *Arabidopsis thaliana* // Plant Physiology and Biochemistry.— 2008.— Vol.46.— P. 627–637.
10. Li G., Lin F., Xue H.W. Genome-wide analysis of the phospholipase D family in *Oryza sativa* and functional characterization of PLD b1 in seed germination // Cell Research.— 2007.— Vol.17.— P. 881–894.
11. Liu X. Y., Rocha-Sosa M. et al. A detailed study of the regulation and evolution of the two classes of patatin genes in *Solanum tuberosum* L. // Plant Mol. Biol.— 1991.— Vol.17.— P. 1139–1154.
12. Yefimenko I.M., Medvedeva T.V., Kovalenko P.G., Gazaryan K.G., Galkin A.P. Organ-specific gene expression in transgenic potato: the cloning a new promoter of a class I patatine gene // Biopolymers and cell.— 1995.— 11, №6.— P. 96–103.
13. Ahn J.H., Choi Y., Kwon Y.M., Kim S.G., Choi Y.D., Lee J.S. A novel extensin gene encoding a hydroxyproline-rich glycoprotein requires sucrose for its wound-inducible expression in transgenic plants // The Plant Cell.— 1996.— Vol.8.— P. 1477–1490.
14. Green P. The ribonucleases of higher plants. // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.— 1994.— Vol.45.— P. 421–445.
15. Vishnyakova M.A., Burlyayeva M.O., Alpatyeva N.B. et al. RAPD analysis species polymorphism of China *Lathyrus* L. kind of *Fabaceae* Lindl. family // Vestnik USG@S.— 2008.— Vol.12, №4.— P. 595.

16. Romanova J.A., Gubareva N.K., Konarev A.V. et al. Research of collection of wheat variety *Triticum spelta* L. on polymorphism of gliadines // Genetics.— 2001.— Vol.37, №9.— P. 1258–1263.

#### **Abstract**

Using DOT-blot hybridization DNA with RNA the analysis of degree homology of products of gene expression (cytoplasmical mRNAs) is fulfilled from the cells of dicotyledonous (soya, pea) and monocotyledonous plants (wheat, corn) leaves, after their separation from plants in an early period with weak photosynthesis (at 5 a.m.), in a middle period (at 2 p.m.) with strong photosynthesis and in the evening period with weak photosynthesis to the relation to mRNA from plant leaves, being in a dark phase (at 2 a.m.). It is shown that divergence in populations between experience and control begins in the early morning at weak sunshine, sharply increases at daily light (at 2 p.m.) and goes out on sunset. It is assumed that these changes occur by the “windmill” switching genes, belonging to one family, but possessing different activity due to location them under promoters of different force (promoters of weak, moderate and strong force) and that plasticity (maneuverability) of plant adaptation to the environment is arrived by such mechanism.

Методом ДОТ-блот гібридизації ДНК з РНК проведено аналіз ступеня гомології продуктів експресії генів (цитоплазматических мРНК) із кліток листьєв двудольних (сои, гороха) і однодольних рослин (пшениці, кукурузи), после відділення їх від рослин в ранній період со слабым фотосинтезом (5 утра), в середній період (14 часов дня) с сильным фотосинтезом і в вечерний період с угасающим фотосинтезом по отношению к мРНК листьєв растений, находящихся в темновой фазе (2 часа ночи — контроль). Показано, что разница в популяциях между опытом и контролем начинается ранним утром при слабом солнечном освещении, резко усиливается при дневном освещении (14 часов дня) и угасает на заходе солнца. Предполагается, что эти изменения происходят путем “веерного” переключения генов, принадлежащих к одному семейству, но обладающих разной активностью за счет расположения их под промоторами разной силы (промоторах слабой силы, умеренной силы и сильных промоторах) и что путем такого механизма достигается пластичность (маневренность) адаптации растений к окружающей среде.

Методом ДОТ-блот гібридизації ДНК із РНК проведено аналіз ступеня гомології продуктів експресії генів (цитоплазматических мРНК) з клітин листків двудольних (сої, гороху) і однодольних (пшениці, кукурудзи) рослин, після відділення їх від рослин в ранній період зі слабким фотосинтезом (о 5-й годині ранку), в середній період (о 14-й годині) з сильним фотосинтезом і в вечірній період із згасаючим фотосинтезом по відношенню до мРНК листків рослин, що знаходились в темновій фазі (о 2-й години ночі — контроль). Показано, що різниця в популяціях між дослідом і контролем починається вже вранці при слабкому сонячному освітленні, різко посилюється при денному освітленні (о 14-й годині дня) та знижується на заході сонця. Припускається, що ці зміни відбуваються шляхом “віяльного” переключення генів, що належать до однієї родини, але виявляють різну активність за рахунок розташування їх під промоторами різної сили (промоторах слабой сили, помірної сили та сильних промоторах) і що шляхом такого механізму досягається пластичність (маневрність) адаптації рослин до оточуючого середовища.

**БАВОЛ А. В., ДУБРОВНА О. В., ЛЯЛЬКО І. І., ЗІНЧЕНКО М. П.**

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України*

*Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: bavol1@rambler.ru*

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ТИДІАЗУРОНУ НА ЧАСТОТУ  
УТВОРЕННЯ МОРФОГЕННОГО КАЛЮСУ ТА РЕГЕНЕРАЦІЮ  
ПАГОНІВ У КУЛЬТУРІ *IN VITRO* М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ**

На сьогодні біотехнологічні методи широко використовуються для вирішення прикладних задач селекції цінних сільськогосподарських культур і, зокрема, пшениці [1–3]. Одержання морфогенного калюсу і наступна регенерація рослин — невід'ємна частина багатьох біотехнологій цієї культури. Однак, до цього часу одним із факторів, що обмежує широке впровадження біотехнологій у генетико-селекційний процес є відсутність ефективних методів масової регенерації рослин із клітинних ліній. Одним із головних чинників, що впливає на регенераційну здатність калюсних культур, є склад живильного середовища. З метою стимулювання процесів морфогенезу до середовищ культивування додають різні біологічно активні речовини — синтетичні аналоги фітогормонів. Зокрема, для вирішення цього завдання дослідниками показана значна ефективність тидіазурону.

Тидіазурон (ТДЗ) — 3-(1,2,3-тіадіазолін-5)-1-фенілсечовина, що використовується як гербіцид та стимулятор росту, одночасно є ефективним регулятором морфогенезу *in vitro* у багатьох дводольних рослин. Показано, що ТДЗ характеризується більшою активністю ніж цитокінін та зеатин. Він стимулює розвиток бічних бруньок пагона та сприяє формуванню стебел у багатьох видів покритонасінних. Згідно сучасних уявлень ТДЗ безпосередньо стимулює ріст через власну біологічну (цитокінінову) активність та здатний стимулювати синтез і накопичення ендогенних цитокінінів. Низькі концентрації ТДЗ у рослин стимулюють ріст пазушних бруньок, однак високі — здатні його інгібувати. Відомо також, що відносно високі концентрації ТДЗ здатні індукувати утворення калюсу та стимулювати формування соматичних ембріоїдів [4].

Однак, на сьогодні інформації щодо дії ТДЗ на культуру пшениці *in vitro* недостатньо. У зв'язку з цим метою нашої роботи було дослідження впливу ТДЗ на індукцію морфогенного калюсу та регенерацію пагонів у калюсних культур пшениці.

**Матеріали і методи**

Матеріалом досліджень був сорт-дворучка м'якої пшениці — Зимоярка, отриманий у відділі експериментального мутагенезу ІФРГ НАН України. В якості експлантів використовували верхівки пагона 1–3 добових проростків, розмір яких варіював у межах 1,5–2,0 мм. Для отримання донорних рослин насіння стерилізували 3 %-вим розчином NaOCl протягом 15 хв, чотири рази відмивали стерильною дистильованою водою і пророщували