

**М. В. Кривохижа\*, Н. М. Рашидов**

*Институт клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна*

\*Відповідальний автор: krivohizha.marina@gmail.com

### **ВПЛИВ НИЗЬКИХ ДОЗ РЕНТГЕНІВСЬКОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА ГЕНИ ФОТОПЕРІОДИЧНОГО МЕХАНІЗМУ РЕГУЛЯЦІЇ ЦВІТІННЯ РОСЛИН**

Наведено результати вивчення впливу низьких доз іонізуючого випромінювання на активність генів фотоперіодичного механізму детермінації цвітіння. Опромінення рослин рентгенівськими променями здійснювалося на четвертому тижні вегетації (стадія стрілки 5,0 згідно з класифікацією Boyes, 2001) дозами 3, 6, 9 та 15 Гр з енергією фотона 6 МеВ та потужністю 89 сГр/с. Дослідження було проведено на ключових генах, що регулюють фотоперіодичні механізми рослин *API*, *GI*, *FT*, *CO*. Аналіз експресії генів проводили методом полімеразно-ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі. Статистичний аналіз результатів кількісної ПЛР проводили за допомогою програми REST 2009. Відносну експресію розраховували шляхом порівняння часу перетину лінії порога кривою флуоресцентного сигналу експериментального та контрольного зразків. Проведені дослідження вказують, що рослини, опромінені рентгенівськими променями в дозі до 15 Гр, вступали у фазу цвітіння раніше по-рівню з контрольною групою. Крім того, у дослідних рослинах спостерігалось підвищення експресії ключових генів цвітіння. Виявлено нелінійну залежність зміни експресії генів фотоперіодичного механізму детермінації цвітіння опромінених рослин. Відповідь механізму детермінації цвітіння рослин на низькі дози радіації не є специфічною порівняно з реакцією на інші абіотичні стресові фактори.

*Ключові слова:* цвітіння, низькі дози, рентгенівське випромінювання, фотоперіодичний механізм, експресія генів, полімеразно-ланцюгова реакція, полімеразно-ланцюгова реакція в реальному часі.

**М. В. Кривохижа\*, Н. М. Рашидов**

*Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев, Украина*

\*Ответственный автор: krivohizha.marina@gmail.com

### **ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ ДОЗ РЕНТГЕНОВСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ГЕНЫ ФОТОПЕРИОДИЧЕСКОГО МЕХАНИЗМА РЕГУЛЯЦИИ ЦВЕТЕНИЯ РАСТЕНИЙ**

Описаны результаты исследования влияния малых доз радиации на активность генов фотопериодического пути детерминации цветения. Облучение растений проводили на 4-й неделе вегетации рентгеновскими лучами в дозе 3, 6, 9 и 15 Гр с энергией фотона 6 МэВ при мощности 89 сГр/с. Для исследования были выбраны ключевые гены фотопериодического механизма *API*, *GI*, *FT*, *CO*. Анализ экспрессии генов проводили методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР) в реальном времени. Статистический анализ результатов количественной ПЦР проводили с помощью программы REST 2009. Относительную экспрессию рассчитывали путем сравнения времени пересечения линии порога кривой флуоресцентного сигнала экспериментального и контрольного образцов. Проведенные исследования указывают, что растения, облученные рентгеновскими лучами в дозе до 15 Гр, раньше вступали в фазу цветения по сравнению с контрольной группой. Кроме того, в растениях экспериментальной группы наблюдали повышение экспрессии ключевых генов цветения. В ходе экспериментов обнаружена нелинейная зависимость изменения экспрессии генов фотопериодического механизма в облученных низкими дозами рентгеновского облучения растениях. Реакция со стороны механизма детерминации цветения на низкие дозы радиации не является специфической по сравнению с ответом на другие абіотические стрессовые факторы.

*Ключевые слова:* цветение, малые дозы, рентгеновское излучение, фотопериодический механизм, экспрессия, полимеразно-цепная реакция, полимеразно-цепная реакция в реальном времени.

**M. V. Kryvokhyzha\*, N. M. Rashydov**

*Institute of Cell Biology and Genetic Engineering of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine*

\*Corresponding author: krivohizha.marina@gmail.com

### **THE LOW DOSES OF X-RAYS RADIATION IMPACT ON THE PHOTOPERIODIC PATHWAY GENES IN PLANTS**

The effects of small doses of irradiation on the activity of genes of the photoperiodic pathway were studied. The irradiation of 4 week old plants by X-ray radiation at doses of 3, 6, 9 and 15 Gy with a dose rate of 89 cGy/s and photon

energy 6 MeV was carried out. The key genes of the photoperiodic path *AP1*, *GI*, *FT*, *CO* were selected for the study. The gene expression analysis in real time polymerase chain reaction (PCR) was performed. The statistical analysis of the quantitative PCR results was performed using the REST 2009 software. The relative expression was calculated by comparing the time when the experimental and control samples fluorescence curves cross the threshold. The studies indicated that plants irradiated with X-rays in a dose up to 15 Gy started the flowering phase earlier than the control group. In addition, the expression of the key flowering genes increased in experimental plants. During the experiments, a nonlinear dependence of the change in the genes expression of the photoperiodic path in plants irradiated with low doses of radiation was found. The reaction from the mechanism of the flowering determination to low doses of radiation is not specific compared with the response to other abiotic stress factors.

**Keywords:** flowering, small doses, X-ray radiation, photoperiodic path, gene expression, polymerase chain reaction, real-time polymerase chain reaction.

## REFERENCES

1. O. Kravets et al. Dynamics of the yield of cytogenetic anomalies in the meristem of sprouts in chronic seed irradiation. *Radiation Biology. Radioecology* 3 (2008) 208.
2. D.M. Grodzinski et al. Induced by acute and chronic gamma irradiation damages to the generative system in *Arabidopsis thaliana* (p. Columbia). In: III Congress of Radiation Research (Radiobiology and Radecology) Kyiv, May 21 - 25, 2003 (Kyiv, 2003) p. 180. (Ukr)
3. I. Kovalchuk et al. Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation. *Mutation Research* 624(1) (2007) 101.
4. O.P. Dmitriev et al. *Epigenetic Factors of Plant Adaptation* (Kyiv: Palyvoda A.V., 2018) 284 p. (Ukr)
5. N. Rashydov et al. Radiobiological Characterization of Environment around Object "Shelter". In: *Nuclear Power Plant*. Ed. by Soon Heung Chang. (Croatia, Rijeka, 2012) p. 231.
6. D.M. Grodzinski et al. *Radiobiological Effects of Chronic Irradiation in the Area of Chernobyl Accident* (Kyiv: Naukova Dumka, 2008) p. 373. (Ukr)
7. I.N. Gudkov, D.M. Grodzinski. Radiobiological effects of plants in the area of influence of the accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant today. In: Materials Intern. Conf. "Radiobiological Effects: Risks, Minimization, Forecast", Kyiv, March 22 - 24, 2005 (Kyiv: National Scientific Center of Radiation Medicine of the National Medical Academy of Ukraine, 2005) p. 122. (Rus)
8. M.V. Kryvokhyzha, N.M. Rashydov. Alteration of flowering gene expression in response to UV-C irradiation of *Arabidopsis thaliana* plants grown under different light and temperature conditions. *Biological systems* 10(1) (2018) 8. (Ukr)
9. L. Parenikova. Molecular and phylogenetic analyses of the complete MADS-box transcription factor family in *Arabidopsis*: New openings to the MADS world. *The Plant Cell Online* 15(7) (2003) 1538.
10. The *Arabidopsis* genome initiative. Analysis of the genome sequence of the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature* 408(6814) (2000) 796.
11. N.S. Mattson, J.E. Erwin. The impact of photoperiod and irradiance on flowering of several herbaceous ornamentals. *Scientia Horticulturae* 104(3) (2005) p. 275.
12. S.G. Hwang et al. Transcriptome analysis of reproductive-stage *Arabidopsis* plants exposed gamma-ray irradiation at various doses. *Int. J. Radiat. Biol.* 92(8) (2016) 451.
13. D.C. Boyes. Growth Stage-Based Phenotypic Analysis of *Arabidopsis*: A Model for High Throughput Functional Genomics in Plants. *The Plant Cell Online* 13(7) (2001) 1499.
14. M.V. Kryvokhyzha, K.V. Krutovsky, N.M. Rashydov. Differential expression of flowering genes in *Arabidopsis thaliana* under chronic and acute ionizing radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* 95(5) (2019) 626.
15. M.W. Pfaffl, G.W. Horgan, L. Dempfle. Relative Expression Software Tool (REST) for Group-Wise Comparison and Statistical Analysis of Relative Expression Results in Real-Time PCR. *Nucleic Acids Research* 30(9) (2002) e36.
16. *REST 2009 Software User Guide*, QIAGEN GmbH (2009) 28 p.
17. S.V. Litvinov, N.M. Rashydov. Relative radio-sensitivity of *Arabidopsis thaliana* *ATMSH2* SALK\_002708 mutant in the sublethal dose range of radiation. *Yaderna Fizyka ta Energetyka (Nucl. Phys. At. Energy)* 19(2) (2018) 145. (Ukr)
18. N.M. Rashydov, O.G. Nesterenko. The problems sustainable remediation of the Chernobyl alienation areas. *Journal of Radiation Researches* 5(2) (2018) 13.

Надійшла 02.04.2019

Received 02.04.2019