

О. О. Коломиец, С. В. Глушен

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь

СУТОЧНЫЙ РИТМ РОСТА ЛИСТЬЕВ И ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК У ПЕРЦА СТРУЧКОВОГО (*CAPSICUM ANNUUM* L.)

Аннотация. С помощью метода, основанного на компьютерном анализе изображений, исследована взаимосвязь между суточным ростом листьев стручкового перца (*Capsicum annuum* L.) и пролиферативной активностью образующих эти органы клеток. Установлено, что наблюдаемая у этого вида динамика роста листьев позволяет отнести его ко второму типу суточного роста двудольных растений, который отличается максимумом прироста вечером или в начале ночи.

Исследование клеток листьев с помощью цитометрии ДНК показывает, что их пролиферативная активность также выше ночью, чем днем. Это позволяет предположить, что суточный ритм роста листьев стручкового перца обусловлен синхронизацией клеточного цикла с помощью освещения.

Ключевые слова: рост растений, цитометрия ДНК, клеточный цикл, перец стручковый

Для цитирования: Коломиец, О. О. Суточный ритм роста листьев и пролиферации клеток у перца стручкового (*Capsicum annuum* L.) / О. О. Коломиец, С. В. Глушен // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. биол. наук. – 2019. – Т. 64, № 4. – С. 448–455. <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-4-448-455>

O. O. Kolomiets, S. V. Gloushen

Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

THE DIEL RHYTHM OF LEAF GROWTH AND CELL PROLIFERATION IN CAPSICUM (*CAPSICUM ANNUUM* L.)

Abstract. Relationship between the diel leaf growth of capsicum and proliferative activity of cells has been investigated using a computer-aided image analysis. It has been established the leaf growth pattern observed in this species allows to refer it to the second type of growth of dicotyledons, which is characterized by the maximum growth rate in the evening or at the beginning of the night.

A DNA cytometry study of leaf cells shows that their proliferative activity is also higher at night than during the day. This suggests that the diel rhythm of capsicum leaf growth is due to the synchronization of cell cycle with a lighting.

Keywords: plant growth, DNA cytometry, cell cycle, capsicum

For citation: Kolomiets O. O., Gloushen S. V. The diel rhythm of leaf growth and cell proliferation in capsicum (*Capsicum annuum* L.). *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2019, vol. 64, no. 4, pp. 448–455 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1029-8940-2019-64-4-448-455>

Введение. Взаимосвязь между ростом организма и пролиферацией образующих его клеток представляет собой одну из центральных проблем биологии. Если на уровне клеточных популяций координация роста и клеточного цикла исследована достаточно детально, то на уровне организма она усложнена процессами дифференцировки и кооперации клеток и изучена недостаточно [1]. Однако знание этих связей важно как для понимания общих закономерностей роста и развития организмов, так и для управления этими процессами.

Рост растения может быть определен как необратимое увеличение его размеров и биомассы, которое находится под контролем внутренних генетических и эпигенетических механизмов, а также факторов внешней среды: питательных веществ, воды, температуры и освещения. На тканевом уровне рост обеспечивается делением, растяжением и дифференцировкой клеток. Суточная динамика роста растения подчиняется ритму, который обладает видовой специфичностью. Например, в листьях однодольных растений наблюдается постоянный рост, интенсивность

которого варьируется в зависимости от времени суток. В отличие от однодольных двудольные растения растут, главным образом, ночью [2]. В какой степени эти различия определяются кинетикой клеточных популяций, остается неясным. Предполагается, что ограниченный период роста у двудольных отражает высокую степень синхронизации клеточных процессов, которые контролируются генетическими и эпигенетическими механизмами.

Цель данной работы – изучение взаимосвязи между суточным ритмом роста листьев стручкового перца (*Capsicum annuum* L.) и пролиферативной активностью образующих этот орган клеток.

Материалы и методы исследования. Объектами исследования служили растения перца сорта Алеся, которые выращивали на универсальном грунте в стандартных лабораторных условиях в контейнерах размером $15 \times 11 \times 7$ см по 5–7 штук. Мониторинг роста проводили с помощью метода, основанного на компьютерном анализе изображений [3].

Мониторинг начинали после появления у растений 3–4 листков при средней высоте проростков 5–8 см. Съемку проводили при следующих условиях: температура 18–20 °С, относительная влажность 50 %. Режим освещения – 12 ч день и 12 ч ночь. Дневной режим начинался в 8.00 и заканчивался в 20.00. В этом режиме растения освещали лампой дневного света (освещенность 75 лк). В ночном режиме растения подсвечивали лампой накаливания с темно-красным фильтром (освещенность 30 лк). Каждый цикл съемки начинали в период 17.00–18.00 и завершали на следующие сутки в это же время. Интервал между снимками составлял 3 мин. Всего в одном цикле мониторинга получали 480 кадров.

Обработка изображений включала два этапа. На первом измеряли площадь проекции листьев и другие параметры, зависящие от их размеров с помощью программы ImageJ [4]. На втором этапе полученные данные обрабатывали в программной системе Octave v.5.1.0. Сначала кривые суточного роста листьев выравнивали по 18.00 и сглаживали для устранения помех, затем вычисляли производную для получения кривой прироста. В каждом эксперименте было использовано от 6 до 9 растений.

Измерение относительного содержания ДНК в клетках проводили с помощью разработанной нами методики. Процедура изготовления цитологических препаратов была следующей:

1. Участок листа растения площадью около 1 см^2 помещали в чашку Петри с охлажденным лизирующим раствором (0,1 М лимонная кислота и 0,5 % тритон X100) объемом 3–6 мл.

2. Нарезали его на кусочки размером 1–3 мм и выдерживали в буферном растворе 40 мин для лизиса клеток и выхода клеточных ядер.

3. Полученную суспензию очищали от целых клеток, пропуская несколько раз через нейлоновые фильтры с диаметром пор от 120 до 60 мкм.

4. Для удаления клеточного детрита суспензию центрифугировали при 1200 об/мин в течение 25 мин в лабораторной центрифуге, после чего супернатант удаляли.

5. Осадок ресуспендировали, переносили в пробирку объемом 1,5 мл и фиксировали, добавляя 70%-ный этанол до конечной концентрации 40 %. Время фиксации – 20 мин.

6. Полученную суспензию клеточных ядер перемешивали с помощью вортекса и пробу объемом 20 мкл помещали на предметное стекло. К ней добавляли такой же объем водного раствора бромистого этидия в концентрации 20 мкг/мл. Через 10 мин препарат накрывали покровным стеклом.

Готовые препараты исследовали в флуоресцентном микроскопе Eclipse50i (Nikon). Микрофотографии клеточных ядер получали, используя объектив с 20-кратным увеличением и цифровую телекамеру DigitalSpot-5Mc. На микрофотографиях флуоресцирующих клеточных ядер при помощи программы ImageJ измеряли их интегральную яркость (параметр Integrated Density), которая пропорциональна относительному содержанию ДНК.

Компьютерная обработка ДНК-цитогамм проводилась с помощью системы Octave. В качестве примера представлены результаты обработки ДНК-цитогамм образца 2.

Сначала их интерполировали кубическим сплайном, затем аппроксимировали двумя нормальными распределениями [5]. В качестве начальных параметров задавали средние и стандартные отклонения, соответствующие диплоидному и тетраплоидному уровням ДНК. Площадь под полученными кривыми принимали равной доле клеток в G0/G1- и G2/M-периодах клеточного цикла [6]. Для статистической обработки использовали программу Statistica v.10.

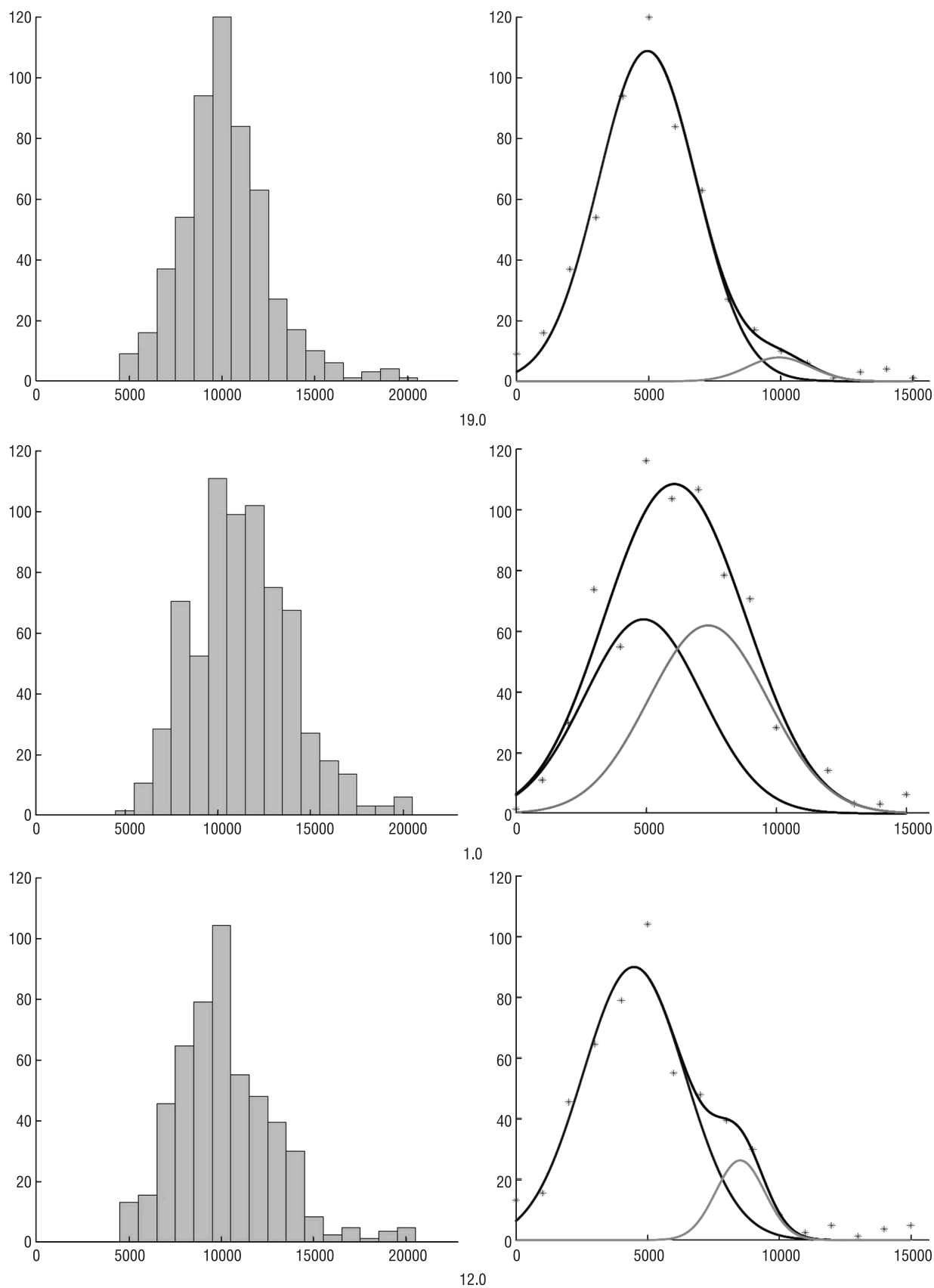


Рис. 1. ДНК-цитогаммы и соответствующий пролиферативный статус клеток у образца 2: темная линия – G0/G1, светлая линия – G2/M, огибающая интерполирует гистограмму (ее столбцы обозначены *)

Fig. 1. DNA cytograms and the corresponding proliferative status of cells in sample 2: dark line – G0/G1, light line – G2/M, envelope graph interpolates the histogram (its columns are marked *)

Результаты и их обсуждение. Динамика суточного роста листьев растений стручкового перца представлена на рис. 2, *a*. На нем показаны две кривые: первая из них (серая линия) отражает фактические изменения среднего размера листьев, тогда как вторая (темная линия) – результат сглаживания первой кривой (он необходим для последующего расчета прироста). На оси абсцисс указано время после начала эксперимента в часах (фактическое время начала – 18.00). На оси ординат показан средний размер листа в 1 мм^2 .

В начале эксперимента регистрировали активные движения листьев. Приблизительно через 2 ч после перевода освещения в ночной режим они прекращались. В условиях ночного режима освещения наблюдалось устойчивое увеличение средних размеров листа, которое заканчивалось к 15-му часу от начала эксперимента.

Полученная путем дифференцирования кривая прироста (рис. 2, *b*) еще более показательна. Она свидетельствует, что начало и окончание процесса роста (точки пересечения кривой с осью абсцисс) соответствуют началу и окончанию ночного режима освещения.

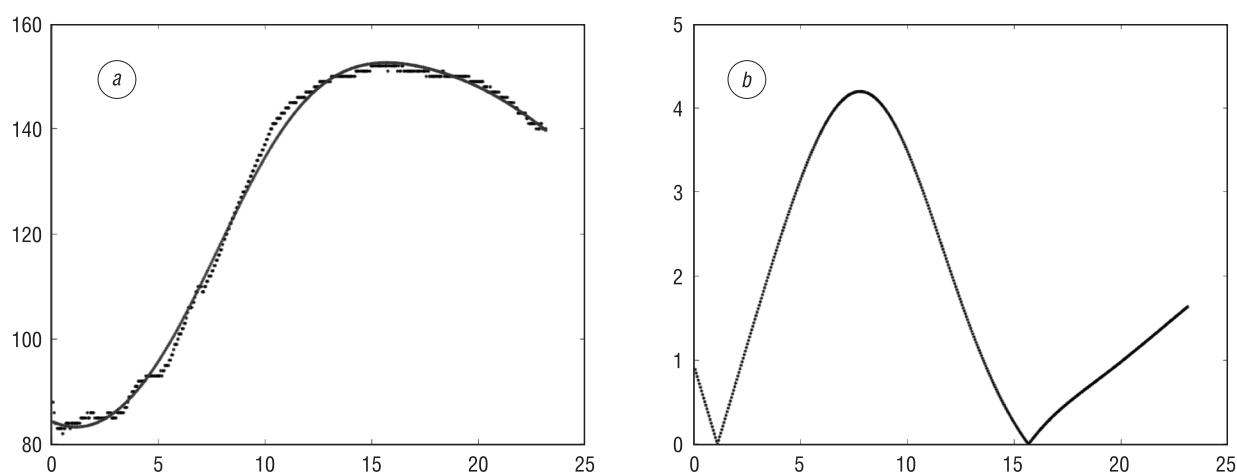


Рис. 2. Динамика суточного роста (*a*) и прироста (*b*) листьев стручкового перца: ось X – время в часах от начала наблюдения (18.00), ось Y – средняя площадь листа в мм^2 (*a*) и средний прирост в $\text{мм}^2/\text{ч}$ (*b*)

Fig. 2. Dynamics of diel growth (*a*) and its tempo (*b*) of capsicum leaves: X -axis – time in hours from the beginning (18.00), Y -axis – average leaf area in мм^2 (*a*) and $\text{мм}^2/\text{h}$ (*b*)

Измерение относительного содержания ДНК в клетках листьев стручкового перца проводилось для того, чтобы оценить их пролиферативную активность. Результаты статистической обработки полученных данных представлены в табл. 1.

Из представленных данных следует, что у всех образцов содержание ДНК в клетках в 1.00 достоверно выше, чем в 19.00 и 12.00. У образцов 1, 2 и 5 между 19.00 и 12.00 статистически достоверные различия в содержании ДНК отсутствуют, тогда как у образцов 3, 4 и 6 они минимальны. Таким образом, в ночном режиме освещения в клетках листьев стручкового перца регистрируется увеличение относительного количества ДНК.

Для оценки пролиферативного статуса клеток ДНК-цитогаммы были разделены на отдельные компоненты, которые соответствовали G1- и G2-периодам клеточного цикла. Аппроксимация выполнялась в системе Octave с помощью разработанных нами программ, основанных на методах нелинейной оптимизации. Полученные результаты представлены ниже (табл. 2).

Из полученных данных следует, что в 19.00 у 4 образцов из 6 (№ 1, 2, 3, 6) большинство клеток находилось в G1-периоде клеточного цикла. У оставшихся двух образцов (№ 4 и № 5) клетки распределялись по клеточному циклу равномерно. Среднее соотношение числа клеток G2/G1 для всех образцов составило $0,637 \pm 0,155$.

В 1.00 у 5 образцов из 6 клетки концентрировались в G2-периоде. Исключение составил образец № 2, у которого клетки распределялись равномерно. Учитывая, что в 19.00 у этого образца большинство клеток находилось в G1-периоде, можно констатировать переход у него части клеток из G1- в G2-период. Соотношение числа клеток G2/G1 в 1.00 достигло $1,458 \pm 0,167$.

Т а б л и ц а 1. Относительное содержание ДНК в клетках листьев стручкового перца в различное время суток

T a b l e 1. Relative DNA content of capsicum leaf cells at different times of the day

Номер образца	Время суток	Ср. значение интенсивности флуоресценции бромида этидия \pm SD, усл. ед.	Достоверность различий относительного содержания ДНК в изученные временные периоды		
			19.00–1.00	1.00–12.00	19.00–12.00
1	19.00	9857,15 \pm 2557,31			
	1.00	11 159,20 \pm 2775,18	$t = 4,9928$	$t = -4,0907$	$t = 1,4223$
	12.00	10 101,17 \pm 2321,66	$p = 0,0000$	$p = 0,0000$	$p = 0,1558$
2	19.00	10 578,91 \pm 4073,92			
	1.00	12 079,48 \pm 4518,18	$t = 5,2172$	$t = -6,1746$	$t = 0,0866$
	12.00	10 591,61 \pm 3340,95	$p = 0,0000$	$p = 0,0000$	$p = 0,9310$
3	19.00	10 666,99 \pm 3507,45			
	1.00	13 348,22 \pm 4619,67	$t = 10,4470$	$t = -7,7971$	$t = 2,4000$
	12.00	10 993,35 \pm 3442,46	$p = 0,0000$	$p = 0,0000$	$p = 0,0169$
4	19.00	12 378,50 \pm 4915,89			
	1.00	12 757,69 \pm 4698,43	$t = 1,6750$	$t = -6,0602$	$t = -3,7323$
	12.00	11 080,79 \pm 3288,39	$p = 0,0945$	$p = 0,0000$	$p = 0,0002$
5	19.00	11 361,47 \pm 3865,38			
	1.00	13 853,67 \pm 5276,24	$t = 8,0288$	$t = -9,1021$	$t = 0,5332$
	12.00	11 427,27 \pm 3662,82	$p = 0,0000$	$p = 0,0000$	$p = 0,5941$
6	19.00	11 349,53 \pm 3998,41			
	1.00	12 776,71 \pm 4461,57	$t = 4,8026$	$t = -5,7826$	$t = -2,9497$
	12.00	10 879,04 \pm 3309,16	$p = 0,0000$	$p = 0,0000$	$p = 0,0033$

Пр и м е ч а н и е. Статистически достоверные различия выделены подчеркиванием.

Т а б л и ц а 2. Распределение клеток листьев стручкового перца по периодам клеточного цикла в зависимости от времени суток

T a b l e 2. Distribution of capsicum leaf cells by cell cycle periods on the time of the day

№ образца	19.00			1.00			12.00		
	G1	G2	G2/G1	G1	G2	G2/G1	G1	G2	G2/G1
1	91,7	8,3	0,091	31,35	68,65	2,19	95,87	4,12	0,043
2	70,53	29,47	0,408	49,98	50,02	1,001	73,69	26,31	0,351
3	63,92	36,08	0,562	38,93	61,07	1,564	59,46	40,54	0,667
4	46,24	53,76	1,174	45,93	54,07	1,174	64,53	35,47	0,538
5	52,41	47,59	0,923	41,92	58,08	1,381	52,62	47,38	0,887
6	60,36	39,64	0,667	41,32	58,68	1,439	60,09	39,91	0,667
Среднее	64,19	35,81	0,637	41,57	58,43	1,458	67,71	32,29	0,525
Ст. откл.	15,95	15,95	0,381	6,34	6,34	0,411	15,44	15,44	0,294

К 12.00 у всех образцов большинство клеток вернулось в период G1. Соотношение G2/G1 в этот срок составило $0,525 \pm 0,121$. Поэтому можно предположить, что ночью клетки перешли из G1- в G2-период клеточного цикла, а затем вернулись в исходное состояние в результате деления. Наиболее наглядно этот переход виден на диаграмме (рис. 3), построенной на основании данных табл. 2. Согласно критерию Стьюдента для зависимых выборок, соотношение G2/G1 в 1.00 достоверно отличается от этого показателя для 19.00 ($t = 4,05$; $p < 0,01$) и 12.00 ($t = 8,92$; $p < 0,001$). С другой стороны, в 19.00 и 12.00 эти соотношения не различались между собой ($t = 0,92$; $p = 0,4$).

У двудольных растений известны два типа суточного роста [7–9]. Для первого из них характерен максимальный рост листьев в конце ночи или рано утром. Этот тип роста наблюдается, в частности, у арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*), клещевины (*Ricinus communis*) и табака (*Nicotiana tabacum*). Ко второму типу относятся растения с максимальным ростом листьев вечером или в начале ночи. Этот тип роста описан у сои (*Glycine max*), подсолнечника (*Helianthus*

annuus), томата (*Lycopersicon esculentum*), а такжэ у некаторых дрэвьев – берэзы (*Betula*), клена (*Acer*) і тополя (*Populus*).

Динамика суточного росту лісьев стручкового перца (*Capsicum annuum* L.) раней не изучалась. Нами ўстаноўлена, што ўстойчывы рост лісьев у гэтага віда наблідаецца ночью, прычём максымальны прырост прыходзіцца на першую яе паловіну. Следзавательна, стручковы перец адносіцца к расьцеям со вторым тыпам суточного росту.

Рост лісьев у двудольных расьцеям кантралюецца спецыяльнымі генамі, котрыя фарміруюць тры рэгуляторных контура. Они согласуют процессы, идущие в ткани листа на клеточном уровне, с колебаниями абиотических факторов внешней среды. Отрицательные обратные связи контуров настроены на период в 24 ч и синхронизируются светом и температурой [2]. Роль внутренних и внешних факторов, регулирующих рост растений, является предметом дискуссий [9]. Согласно полученным нами данным, процесс роста листьев у стручкового перца зависит от режима освещения. Как следует из полученных данных, активный рост листьев наблюдался в период 1–15 ч от начала эксперимента, что соответствовало ночному режиму. Обращает на себя внимание также снижение средней величины листьев в конце мониторинга, что можно объяснить их движением. Согласованность роста и движения листьев, а также зависимость этих процессов от режима освещения была показана недавно у арабидопсиса [10].

Суточный ритм пролиферации клеток был исследован путем измерения относительного содержания ДНК в клеточных ядрах. Первоначально этот метод был разработан для проточной цитометрии [11], однако нами он был адаптирован и для обычной флуоресцентной микроскопии. В данном сообщении представлен последний вариант методики выделения клеточных ядер, который позволяет получить цитологические препараты улучшенного качества.

Согласно модели клеточного цикла, ДНК-цитогарма должна иметь два пика: первый из них соответствует G0/G1-клеткам, относительное содержание ДНК у которых равно 2С (удвоенному количеству ДНК, приходящемуся на гаплідный набор хромосом данного віда), тогда как второй – G2/М-клеткам, содержание ДНК у которых в 2 раза больше и соответствует 4С. Между двумя пиками в цитогарме располагаются клетки, в которых идет синтез ДНК, и поэтому ее содержание варьируется от 2С до 4С. В действительности форма ДНК-цитогармы отличается от идеальной, причинами чего являются гетерогенность клеточной популяции, различия в эффективности связывания флуорохрома с ДНК, ошибки прибора на различных этапах формирования изображения и т. п. В связи с этим ДНК-цитогарму предлагается рассматривать как результат свертки идеального распределения клеток по количеству ДНК с функцией уширения [12]. Если принять, что природа функции уширения является случайной, в качестве такой функции правомерно использовать нормальное распределение. Тогда ДНК-цитогарму можно представить как наложение двух нормальных распределений, средние значения которых соответствуют относительному содержанию ДНК в G0/G1- и G2/М-периодах клеточного цикла.

Для обработки ДНК-цитогарм нами использовался функциональный аналог MatLab – свободно распространяемая программная система Octave. С ее помощью проводили построение и интерполяцию ДНК-цитогарм, их аппроксимацию, а также вычисление интегралов, соответствующих доле клеток в каждом из периодов клеточного цикла. При этом использовались различные способы оптимизации, включая метод касательных Ньютона, модифицированный симплекс-метод Нелдера-Мида и метод наименьших квадратов. Наилучшие результаты по качеству аппроксимации были получены с помощью метода касательных. Применение этого метода требует лишь приблизительного задания начальных условий, а кроме того, он дает

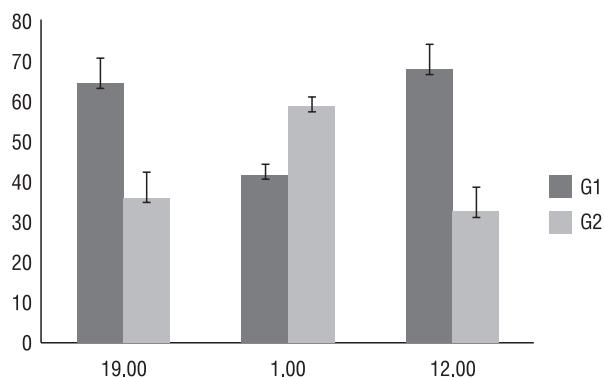


Рис. 3. Проліферативны статус клетак ліста у стручкового перца в разлічнае время сутак (срэдня доля клетак в G1- или G2-пэрыяде ± срэдня квадратічная ашыбка)

Fig. 3. Proliferative status of leaf cells in capsicum at different times of the day (average cell fraction in G1- or G2-period ± mean square error)

и более устойчивое решение. Если средние и стандартные отклонения известны (например, при калибровке по стандартам), наиболее точные результаты можно получить методом наименьших квадратов.

Аппроксимация ДНК-цитогамм нормальными распределениями и вычисление на этой основе доли клеток, находящихся в G0/G1- или G2/M-периодах клеточного цикла, позволяют заключить, что пролиферативная активность клеток листьев была значительно выше в 1.00 по сравнению с этим же показателем в 19.00 или в 12.00 (рис. 3). Несмотря на то что растения, по-видимому, отличались величиной ростовой фракции (это следует из данных, представленных в табл. 2), общая тенденция вполне очевидна – клетки листьев этого вида в условиях эксперимента пролиферировали, главным образом, ночью.

Сопоставляя данные, полученные при изучении ритма роста листьев у стручкового перца (рис. 2) и пролиферативной активности образующих этот орган клеток (рис. 3), можно предположить, что усиленный рост экспериментальных растений в ночной период был обусловлен, главным образом, синхронной пролиферацией клеток. Фактором, обеспечивающим синхронизацию клеток по клеточному циклу, а следовательно, и усиленный рост листьев, являлся, вероятно, переход от дневного режима освещения к ночному.

Выводы

1. У стручкового перца (*Capsicum annuum* L.) период усиленного роста листьев наблюдается в ночное время. Таким образом, этот вид относится ко второму типу суточного роста двудольных растений, который отличается максимальным приростом вечером или в начале ночи.

2. Исследование клеток листьев стручкового перца с помощью цитометрии ДНК показывает, что их пролиферативная активность ночью выше, чем днем.

3. Сопоставление динамики роста листьев и пролиферативной активности образующих этот орган клеток позволяет предположить, что у данного вида суточный ритм роста листьев обусловлен синхронизацией клеточного цикла освещением.

Список использованных источников

1. Sablowski, R. Interplay between cell growth and cell cycle in plants / R. Sablowski, M. C. Dornelas // J. Exp. Bot. – 2014. – Vol. 65, N 10. – P. 2703–2714. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert354>
2. The importance of the circadian clock in regulating plant metabolism / J. A. Kim [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18, N 12. – P. 2680. <https://doi.org/10.3390/ijms18122680>
3. Коломиец, О.О. Динамика суточного роста листьев томата и перца при различных условиях освещения / О.О. Коломиец, С.В. Глушен // Журн. Бел. гос. ун-та. Биология. – 2019. – № 1. – С. 73–78.
4. Schneider, C.A. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis / C.A. Schneider, W.S. Rasband, K.W. Eliceiri // Nat. Meth. – 2012. – Vol. 9, N 7. – P. 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
5. O’Haver, T. Pragmatic introduction to signal processing / T. O’Haver. – College Park : Univ. of Maryland, 2019. – 459 p.
6. Fiorani, F. Quantitative analyses of cell division in plants / F. Fiorani, G. T. S. Beemster // Plant Mol. Biol. – 2006. – Vol. 60, N 6. – P. 963–979. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-4065-2>
7. Matsubara S., Living in day-night cycles – specific diel leaf growth patterns and the circadian control of photomorphogenesis / S. Matsubara, A. Walter // Progress in Botany. – 2007. – N 68. – P. 288–314. https://doi.org/10.1007/978-3-540-36832-8_13
8. Diel time-courses of leaf growth in monocot and dicot species: endogenous rhythms and temperature effects / R. Poiré [et al.] // J. Exp. Bot. – 2010. – Vol. 61, N 6. – P. 1751–1759. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq049>
9. Diel patterns of leaf and root growth: endogenous rhythmicity or environmental response? / T. Ruts [et al.] // J. Exp. Bot. – 2012. – Vol. 63, N 9. – P. 3339–3351. <https://doi.org/10.1093/jxb/err334>
10. Differentially phased leaf growth and movements in *Arabidopsis* depend on coordinated circadian and light regulation / T. Dombusch [et al.] // Plant Cell. – 2014. – Vol. 26, N 10. – P. 3911–3921. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.129031>
11. Galbraith, D.W. Flow cytometry and fluorescence-activated cell sorting in plants: the past, present, and future / D.W. Galbraith // Biomedica. – 2012. – N 30. – P. 65–70. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i0.824>
12. Особенности цитометрических методов определения содержания ДНК в ядре / Ю.Г. Пичугин [и др.] // Цитология. – 2012. – Т. 54, № 2. – С. 185–190.

References

1. Sablowski R., Dornelas M. C. Interplay between cell growth and cell cycle in plants. *Journal of Experimental Botany*, 2014, vol. 65, no. 10, pp. 2703–2714. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert354>
2. Kim J. A., Kim H.-S., Choi S.-H., Jang J.-Y., Jeong M.-J., Lee S. I. The importance of the circadian clock in regulating plant metabolism. *International Journal of Molecular Science*, 2017, vol. 18, no. 12, p. 2680. <https://doi.org/10.3390/ijms18122680>

3. Kolomiets O. O., Glushen S.V. The dynamics of diel growth of tomato and capsicum leaves with different lighting modes. *Zhurnal Belorusskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Journal of the Belarusian State University. Biology*, 2019, no. 1, pp. 73–78 (in Russian).
4. Schneider C. A., Rasband W. S., Eliceiri K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 2012, vol. 9, no. 7, pp. 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
5. O’Haver T. *Pragmatic introduction to signal processing*. College Park, University of Maryland, 2019. 459 p.
6. Fiorani F., Beemster G. T. S. Quantitative analyses of cell division in plants. *Plant Molecular Biology*, 2006, vol. 60, no. 6, pp. 963–979. <https://doi.org/10.1007/s11103-005-4065-2>
7. Matsubara S., Walter A. Living in day-night cycles – specific diel leaf growth patterns and the circadian control of photomorphogenesis. *Progress in Botany*, 2007, vol. 68, pp. 288–314. https://doi.org/10.1007/978-3-540-36832-8_13
8. Poiré R., Wiese-Klinkenberg A., Parent B., Mielewicz M., Schurr U., Tardieu F., Walter A. Diel time-courses of leaf growth in monocot and dicot species: endogenous rhythms and temperature effects. *Journal of Experimental Botany*, 2010, vol. 61, no. 6, pp. 1751–1759. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq049>
9. Ruts T., Matsubara S., Wiese-Klinkenberg A., Walter A. Diel patterns of leaf and root growth: endogenous rhythmicity or environmental response? *Journal of Experimental Botany*, 2012, vol. 63, no. 9, pp. 3339–3351. <https://doi.org/10.1093/jxb/err334>
10. Dombusch T., Michaud O., Xenarios I., Fankhauser C. Differentially phased leaf growth and movements in *Arabidopsis* depend on coordinated circadian and light regulation. *Plant Cell*, 2014, vol. 26, no. 10, pp. 3911–3921. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.129031>
11. Galbraith D.W. Flow cytometry and fluorescence-activated cell sorting in plants: the past, present, and future. *Biomédica*, 2012, vol. 30, pp. 65–70. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v30i0.824>
12. Pichugin Yu. G., Sem’yanov K. A., Chernyshev A. V., Pal’chikova I. G., Omel’yanchuk L. V., Mal’tsev V.P. Nucleus DNA content measurement methods features. *Tsitologiya = Cytology*, 2012, vol. 54, no. 2, pp. 185–190 (in Russian).

Информация об авторах

Коломиец Олег Олегович – аспирант. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 10, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: oleg_inna.90@mail.ru

Глушен Сергей Витальевич – канд. биол. наук, доцент. Белорусский государственный университет (ул. Курчатова, 10, 220030, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: sgloush@gmail.com

Information about the authors

Oleg O. Kolomiets – Postgraduate student. Belarusian State University (10, Kurchatov Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: oleg_inna.90@mail.ru

Sergey V. Gloushen – Ph. D. (Biol.), Assistant professor. Belarusian State University (10, Kurchatov Str., 220030, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: sgloush@gmail.com