

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
У Ч Р Е Ж Д Е Н И Е В Ы С Ш Е Г О О Б Р А З О В А Н И Я
«Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»
Обнинский институт атомной энергетики –
филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего
образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»
(ИАТЭ НИЯУ МИФИ)

На правах рукописи

АФОНИНА СВЕТЛАНА ОЛЕГОВНА

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ РЕДКО- И ПЛОТНОИОНИЗИРУЮЩЕГО
ИЗЛУЧЕНИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, БИОХИМИЧЕСКИЕ И
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРОРОЩЕННЫХ СЕМЯН
HORDEUM VULGARE L.

Специальность 1.5.1. Радиобиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
Комарова Людмила Николаевна

Обнинск – 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Радиобиологические эффекты действия ионизирующих излучений.....	10
1.2 Ячмень как востребованная сельскохозяйственная культура	17
1.3 Изменение интенсивности фотосинтеза как признак стресса	20
1.4 Пролин как индикатор состояния растений в условиях стрессовых воздействий	23
1.5 Малоновый диальдегид – показатель окислительного стресса	25
1.6 Митотический индекс и частота цитогенетических нарушений после действия ионизирующего излучения.....	27
1.7 Изменение экспрессии генов стрессового ответа	29
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	34
2.1 Объект исследования	34
2.2 Схема эксперимента.....	34
2.2.1 Облучение семян ячменя обыкновенного.....	34
2.2.2 Проращивание облученных семян и общая схема эксперимента	35
2.2.3 Оценка биохимических показателей ячменя обыкновенного	36
2.2.4 Оценка генетических показателей ячменя обыкновенного	38
2.3 Статистическая обработка полученных данных	40
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	41
3.1 Влияние ионизирующего излучения на морфологические показатели ячменя.....	41
3.2 Влияние ионизирующего излучения на биохимические показатели проростков	47
3.2.1 Влияния ионизирующего излучения на фотосинтетические пигменты в проростках ячменя обыкновенного	47
3.2.2 Содержание пролина в растительном материале после действия ионизирующего излучения	55
3.2.3 Содержание малонового диальдегида в растительном материале после действия ионизирующего излучения.....	59
3.3 Влияние ионизирующего излучения на изменение генетических показателей ячменя	63
3.3.1 Изменение митотического индекса после действия ионизирующего излучения.....	63
3.3.2 Частота и спектр цитогенетических нарушений после действия ионизирующего излучения	66

3.3.3 Изменение экспрессии генов стрессового ответа после действия ионизирующего излучения	74
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	95
ВЫВОДЫ	97
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	99
БЛАГОДАРНОСТЬ.....	118
ПРИЛОЖЕНИЕ А	119

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Согласно Указу Президента РФ от 07.05.2024 № 309 «О национальных целях развития Российской Федерации на период до 2030 года и на перспективу до 2036 года», одним из ключевых аспектов развития РФ является обеспечение продовольственной безопасности и устойчивое развитие агропромышленного сектора. «Повышение экономической эффективности выращивания сельскохозяйственных культур заключается в предпосевном облучении семян, а также мутационной селекции растений» [8]. Несмотря на большое количество данных, которые подтверждают возможность использования ионизирующего излучения как инструмента для стимуляции развития и роста растений, остаются неизученными вопросы, связанные с научным обоснованием данной технологии [23; 37; 89]. Несмотря на это, исследование влияния облучения на сельскохозяйственные культуры открывает новые горизонты для агрономии, внося вклад в создание стрессоустойчивых сортов, а также способствует разработке методов оценки экологических стрессоров, что важно для сохранения биоразнообразия.

Изучение механизмов стрессовых реакций растений на воздействие ионизирующих излучений играет важную роль в радиобиологии, поскольку понимание этих процессов способствует раскрытию механизмов адаптации живых организмов к внешним воздействиям. Растущий интерес к радиобиологическим исследованиям влияния редко- и плотноионизирующего излучения связан с необходимостью выявления эффектов космической радиации при осуществлении космических миссий. Проводимые исследования имеют практическое значение, поскольку семена и растения являются источниками питательных веществ, витаминов и кислорода в условиях длительных межпланетных полетов.

Степень разработанности проблемы. В сравнении с большей частью биологических наук, радиобиология имеет довольно короткую историю: ее зарождение приурочено к открытию радиоактивности, произошедшем в конце XIX в. Радиобиология растений стала складываться в самостоятельную область исследований с начала XX в., когда накопились сведения о реакциях растений на воздействие рентгеновских лучей и радия. Значительный вклад в основы радиобиологии растений внесли такие исследователи как Л.П. Бреславец [19], А. Сперроу [183], Е.И. Преображенская [65], А.М. Кузин [51], И.М. Васильев [21], Н.Ф. Батыгин [11], Д.М. Гродзинский [32], И.Н. Гудков [33], К.Д. Коломиец [46]. В реакциях растений на ионизирующее излучение проявляются как специфические особенности этих организмов, так и общие радиобиологические закономерности. В связи с неподвижным образом жизни растения сталкиваются со стрессовыми условиями окружающей среды, что ограничивает

их возможности по снижению негативных последствий. В результате они адаптируются через специфические изменения в метаболических процессах и регулировании экспрессии генов [197].

В настоящее время технологический прогресс и развитие прикладных областей биологических наук позволяют расшифровывать механизмы реализации эффектов после действия ионизирующих излучений. Согласно имеющимся данным, с увеличением поглощенной дозы ионизирующего излучения повышается количество свободных радикалов. Это не только указывает на нарушение баланса между антиоксидантами и прооксидантами, но и играет значительную роль в фенотипической адаптации, поскольку активные формы кислорода выступают в качестве сигнальных молекул, участвующих в формировании стрессовой реакции у растений [6; 38]. При облучении в стимулирующих дозах формируются адаптационно-приспособительные признаки: модификация антиоксидантной и фитогормональной систем, а также усиление активности пентозофосфатного пути окисления глюкозы, который играет важную роль в защите клеток от радиационно-индуцированного апоптоза [6; 23]. Дальнейшее увеличение поглощенной дозы влечет за собой деполяризацию мембранного потенциала и синтез стрессовых белков [90].

На данный момент исследования механизмов адаптации заключаются в выяснении общих принципов передачи стрессовых сигналов в растительных клетках, идентификации генов и кодируемых ими специфических белков, причастных к развитию радиационно-индуцированных эффектов. Однако, многие составляющие адаптивных реакций остаются невыясненными, к тому же исследования в области радиобиологии растений выглядят фрагментарно, каждый из которых предлагает уникальные наблюдения, но не представляя целостную картину. Успешное развитие радиобиологических исследований растений может осуществляться лишь при гармоничном рассмотрении процессов с разных позиций, с привлечением разнообразных подходов и методов.

Цель диссертационной работы: анализ влияния редко- и плотноионизирующего излучения на морфологические, биохимические и генетические показатели ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) трех сортов Витязь, Ладны и Бадьорий.

Задачи исследований:

1. Изучить влияние гамма-, протонного излучения, а также облучения тяжелыми ионами (^{12}C) на морфологические показатели (длина ростка и главного корня) *Hordeum vulgare* L. трех сортов;

2. Оценить содержание основных фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, каротиноидов) в проростках ячменя обыкновенного трех сортов после воздействия редко- и плотноионизирующего излучения;
3. Проанализировать изменение содержания стрессовых метаболитов (малонового диальдегида и пролина) в тканях *Hordeum vulgare* L. в ответ на излучения разного качества;
4. Исследовать влияние гамма-, протонного излучения, а также облучения тяжелыми ионами (^{12}C) на цитогенетические (митотический индекс, частота клеток с цитогенетическими нарушениями, спектр цитогенетических нарушений) и генетические показатели (гены стрессового ответа).

Научная новизна. Научная новизна исследования заключается в комплексном, многофакторном подходе изучения влияния ионизирующего излучения с разным ЛПЭ на ранние этапы онтогенеза ячменя обыкновенного трех районированных сортов Витязь, Ладны и Бадьорий. Впервые показаны закономерности и различия влияния гамма-облучения, облучения протонами и тяжелыми ионами ^{12}C на морфологические, биохимические и цитогенетические показатели ячменя обыкновенного. Впервые выявлен спектр хромосомных aberrаций в клетках проростков ячменя обыкновенного после действия протонного излучения и облучения тяжелыми ионами углерода. Впервые исследована транскрипционная активность генов стрессового ответа (HORVU2Hr1G057880, кодирующий пролил-тРНК синтетазу; HORVU5Hr1G125450, кодирующий мембранный белок PM19L; HORVU2Hr1G040780, кодирующий хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCP типа III) после действия протонного излучения и облучения тяжелыми ионами углерода.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты будут полезны для развития фундаментальных основ радиобиологии растений и космической радиобиологии. Анализ полученных закономерностей изменения морфологических, биохимических и цитогенетических показателей семян ячменя обыкновенного после облучения ионизирующим излучением с разной ЛПЭ дополняют фундаментальные представления об адаптивных механизмах растений после облучения. Практическая значимость работы связана с экспериментальным подкреплением обоснования технологии предпосевного облучения семян, а также полученные данные могут быть использованы для моделирования систем выращивания растений в условиях космического полета.

Полученные в результате подготовки диссертации данные используются в учебном процессе при изучении студентами направлений подготовки 03.03.02 – Физика, 06.03.01, 06.04.01 – Биология, таких дисциплин, как «Радиобиология», «Биоэффекты малых доз радиации», «Нормирование радиационного и химического загрязнения».

Методология и методы исследования. Экспериментальная работа проводилась с 2015 по 2024 годы в лабораториях Центра биотехнологий ИАТЭ НИЯУ МИФИ.

Облучение семян гамма-квантами проводили на базе НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ (Калужская область, г. Обнинск), на УНУ «ГУР-120» Источник излучения – ^{60}Co .

Облучение тяжелыми ионами ^{12}C проводили на базе НИЦ «Курчатовский институт» – ИФВЭ (Московская область, г. Протвино) на каскаде ускорителя «У-70».

Облучение протонами проводили на базе МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (Калужская область, г. Обнинск) на установке «Прометеус».

Длину ростка и главного корня определяли на 7-ой день проращивания. На 10-ые сутки проращивания проводили количественное определение содержания фотосинтетических пигментов и стрессовых метаболитов в экстрактах проростков ячменя, рассчитывая показания на основе оптической плотности, измеренной с помощью фотометра КФК-3-01. («ЗОМЗ», Россия). Оценку цитогенетических показателей проводили на световом микроскопе «Микмед-5» («ЛОМО», Россия) при 400- и 1000-кратном увеличении. На однодневных корешках подсчитывали общее число клеток, число делящихся клеток в разных стадиях митоза, учитывая качественные и количественные цитогенетические нарушения. Для оценки уровня экспрессии генов в зародышах, семидневных ростках и корнях ячменя использовали метод ОТ-ПЦР (полимеразно-цепная реакция с обратной транскрипцией) на амплификаторе QuantStudio 5 («Thermo Scientific», США) в режиме реального времени.

Положения, выносимые на защиту:

1. Дозы гамма-облучения 15 и 20 Гр способствуют увеличению длины ростка и главного корня у ячменя обыкновенного сортов Витязь, Ладны и Бадьорий, повышению содержания хлорофиллов и каротиноидов, усилению транскрипционной активности гена, кодирующего пролил-тРНК синтазу и гена, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCP типа III.
2. Облучение семян ячменя сортов Витязь, Ладны и Бадьорий протонным пучком в дозах 10 Гр и выше приводит к снижению длины ростка и главного корня, к уменьшению содержания фотосинтетических пигментов, снижению митотического индекса, повышению транскрипционной активности гена, кодирующего пролил-тРНК синтазу.
3. Облучение семян ионами ^{12}C в дозах 1-6 Гр не оказывает значимого влияния на изменение морфологических показателей, содержание пролина, активность деления клеток корневой меристемы ячменя обыкновенного, экспрессию генов, кодирующего мембранный белок PM19L и пролил-тРНК синтазу.

4. Ведущая роль в генотоксическом эффекте при гамма-облучении в диапазоне доз от 2 до 25 Гр и при действии плотноионизирующего излучения отводится отставаниям хромосом, одиночным фрагментам и мостам, тогда как при гамма-облучении в дозе 50 Гр – слипанию хромосом.

5. Наиболее чувствительным показателем к действию ионизирующего излучения разного качества является концентрация фотосинтетических пигментов.

Достоверность результатов. Достоверность полученных результатов обеспечивается комплексным подходом, включающим в себя широкий спектр рассматриваемых параметров, значительное количество экспериментальных данных, применение современного лабораторного оборудования, а также проведением статистического анализа с использованием актуальных программных средств, таких как Microsoft Office Excel 2019 и SigmaPlot 11.0. Экспериментальные исследования проводились в трех биологических и трех технических повторностях. В настоящей работе было изучено 16127 образцов для определения морфологических изменений, измерена оптическая плотность 4860 вытяжек из проростков для определения биохимических показателей. Для изучения цитогенетических показателей было изучено 8214 давленных препаратов корневой меристемы ячменя, просмотрено более 3 млн клеток, в которых отмечали стадии клеточного цикла, определяли качественный и количественный состав клеток с цитогенетическими аномалиями. Для определения уровней транскрипционной активности генов стрессового ответа было поставлено и проанализировано 11340 реакций. Экспериментальные данные были проанализированы на наличие аномальных значений, т. н. выбросов, которые в дальнейшем были исключены из анализа. Соответствие выборки нормальному распределению оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. В ходе статистической обработки использовали параметрический критерий Стьюдента и непараметрический расширенный критерий Манна-Уитни. Для вычисления относительного уровня транскрипционной активности целевых генов был использован метод $2^{-\Delta Ct}$.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. В соответствии с паспортом специальности 1.5.1. Радиобиология, охватывающей исследования закономерностей биологического ответа на воздействие ионизирующих излучений (п. 2.); механизмы действия ионизирующих излучений на ДНК, РНК, белки и клеточные мембраны и механизмы радиационного гормезиса (п. 5); количественные оценки биологического действия излучения и особенности биологического действия малых доз облучения (п. 7); исследования в области радиобиологии растений, влиянии ионизирующих излучений на растения (п. 12) и сельскохозяйственной радиобиологии (п. 14).

Апробация работы. Результаты данной работы были представлены на конференциях разного уровня – региональных, всероссийских и международных, в том числе: на Международной научно-практической конференции «Инновационные решения актуальных вопросов биологической, токсикологической и радиационной безопасности для АПК» (Казань, 2024); Международной (Региональной) научной конференции «Техногенные системы и экологический риск» (Обнинск, 2016, 2017, 2021, 2023); 26-ой Пушкинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2023); Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Ильинские чтения» (Москва, 2022, 2023); International Symposium on Physics, Engineering and Technologies for Biomedicine (Москва, 2020, 2022); Международной научно-практической конференции «Будущее атомной энергетики – AtomFuture» (Обнинск, 2016, 2017, 2020, 2021, 2022, 2023); I Международной молодежной конференции «Генетические и радиационные технологии в сельском хозяйстве» (Обнинск, 2022); Международном молодежном научном форуме «ЛОМОНОСОВ-2022» (Москва, 2022); 63-й Всероссийской научной конференции МФТИ (Москва, 2020); Международной молодежной конференции «Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии» (Обнинск, 2019); Международной конференции «Современные проблемы радиационной медицины: от науки к практике» (Гомель, 2019); Международной конференции «Безопасность АЭС и подготовка кадров» (Обнинск, 2018); 70-й Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2017).

Личный вклад диссертанта в работу. Личный вклад автора включает в себя определение целей и задач исследования, выбор теоретических и экспериментальных методов для их достижения, анализ существующих литературных источников, планирование и выполнение экспериментов, статистическую обработку полученных данных и интерпретацию результатов, формулирование выводов, подготовку докладов для научных конференций, публикации в рецензируемых научных изданиях, а также написание текста диссертации.

Публикации. Полнота представленных материалов диссертации подтверждается публикацией 31 научной работы, из которых: 5 статей, опубликованных в рецензируемых научных журналах, входящих в список ВАК, а также индексируемых в Scopus и Web of Science, учебное пособие (в трех частях) по дисциплине «Радиобиология» для высших учебных заведений, тезисы докладов.

Структура и объем диссертационной работы. Работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка литературы, включающего 197 источников, из которых 102 на иностранном языке, приложения. Диссертация изложена на 119 страницах, содержит 3 таблицы и 49 рисунков.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Радиобиологические эффекты действия ионизирующих излучений

В зависимости от линейной передачи энергии (ЛПЭ) ионизирующее излучение делят на плотноионизирующее и редкоионизирующее. ЛПЭ является характеристикой заряженной частицы и определяется как средняя потеря энергии заряженной частицы на ионизацию и возбуждение атомов вещества на единицу длины ее пробега. Величина ЛПЭ зависит от заряда ионов и их энергии. К плотноионизирующему излучению ($\text{ЛПЭ} > 10 \text{ кэВ/мкм}$) относят: α -излучение, нейтроны, дейтроны, пи-мезоны, протоны, ионы углерода и др. К редкоионизирующему излучению ($\text{ЛПЭ} < 10 \text{ кэВ/мкм}$): β -, γ -излучение, рентгеновское излучение [95].

Плотноионизирующее и редкоионизирующее излучение различаются по механизму повреждающего действия. При действии плотноионизирующего излучения основной радиобиологический ответ будет зависеть от прямого механизма действия, выражающийся в повреждении чувствительных структур клеток, в том числе генетического материала. Редкоионизирующее излучение кроме прямого действия, обладает возможностью косвенно воздействовать на все структуры клеток посредством радиотоксинов. Учитывая, что биологические системы состоят на 75-90% из воды, косвенные эффекты возникают из-за взаимодействия продуктов радиолиза воды с ДНК [166]. Ионизация молекул воды приводит к образованию мощных окислителей – H^+ , OH^- , H_2O_2 , H_2 . Гидроксильный радикал, обладая высокой реакционной способностью и сильным окислительным действием, способен диффундировать и вступать в реакцию со всеми структурами клеток.

На сегодняшний день космическое излучение представляет собой одну из ключевых проблем, с которыми сталкиваются при планировании межпланетных полетов [122]. Ожидается, что в ближайшее 10-20 лет покорение космического пространства перейдет на совершенно новый уровень – человечество сможет выйти за пределы орбиты Земли [30]. Чтобы это осуществить, необходимо разностороннее изучить биологические эффекты, которые могут быть вызваны космической радиацией.

Протоны являются ключевым компонентом космических лучей. В соответствии с современными представлениями, космическую радиацию можно разделить на три типа: галактические космические лучи (ГКЛ), солнечные космические лучи (СКЛ) и радиационные пояса Земли. ГКЛ представляют собой наиболее высокоэнергетичную часть корпускулярного

потока в межпланетном пространстве. Они состоят из ускоренных до высоких энергий ядер химических элементов, среди которых 87% составляют протоны (ядра водорода), 12% – α -частицы (ядра гелия) и около 1% – тяжелые ядра, обладающие энергиями в диапазоне 300-500 МэВ/нуклон [311; 633].

В некоторых работах [159; 192] основное внимание уделяется использованию протонного облучения для индукции генетической изменчивости сельскохозяйственных растений с целью создания новых сортов с высокой продуктивностью и устойчивостью к различным стрессорам (засоленность, гербициды и др.), благотворно влияющих на урожайность. Традиционно гамма- и рентгеновские лучи, которые представляют собой электромагнитное излучение, использовались для мутагенеза в течение более 90 лет мутационной селекции растений. Совсем недавно ионизирующие частицы, такие как быстрые нейтроны и тяжелые ионы, привлекли внимание, поскольку частота и спектр мутаций, вызываемых этими частицами, значительно отличаются от тех, которые вызываются электромагнитным излучением. Например, у гвоздики и хризантемы, облучение пучком углерода привело к более высокой частоте и широкому спектру мутаций по сравнению с гамма-облучением [196; 186]. В работе [111] проводили исследование влияния облучения гамма-лучами, протонами и ионами углерода на полевицу (*Agrostis stolonifera*), и показали, что облучение протонами можно использовать в качестве физического мутагена.

Биологическая реакция на облучение в основном зависит от типа излучения, типа взаимодействия, а также способа депонирования энергии в тканях [107; 119]. Учитывая структуру зерна злаков, ионный пучок может легко проникать через оболочку зерновок и достигать меристематической ткани зародыша с высокой эффективностью облучения [149]. Исследование повреждений ДНК у орхидеи с помощью комета-теста после облучения протонами показало, что протонный пучок с энергией 45 МэВ вызывал значительное повреждение целостности ДНК, а пучок протонов с энергией 100 МэВ и гамма-излучение показали относительно небольшое радиационное повреждение ДНК. Содержание малонового диальдегида (МДА) немного повышалось при использовании пучка протонов с энергией 45 МэВ и сильно увеличивалось при облучении протонами с энергией 100 МэВ [120]. Исследование, направленное на оценку морфологических эффектов у сои (*Glycine max* L. Merr.) после облучения протонным пучком с энергией 57 МэВ в диапазоне 50-400 Гр, показало, что всхожесть трех корейских элитных сортов (Kwangankong, Daepungkong и Pungsannamulkong) увеличилась до 95%, однако показатели выживаемости были значительно снижены. Кроме того, высота растений, сырая масса побегов и корней значительно уменьшались при дозах облучения более 100 Гр [127].

Изучение действия ионизирующего излучения на биологические объекты в зависимости от качества, дозы и мощности облучения послужило основой для разработки и внедрения в сельское хозяйство такого агроприема, как предпосевное облучение семян, основанное на положительном действии ионизирующего излучения. В течение последних нескольких десятилетий существуют два направления в радиобиологии, спор между которыми никак не закончится чьей-либо победой. Причина – разные подходы к оценке влияния на биоту малых доз радиации. Первый подход утверждает, что проблемы малых доз не существует, а второй – что эффекты, которые получены при воздействии ионизирующего излучения в низких дозах, нельзя оценивать путем экстраполяции данных, полученных при высоких дозах, в область малых доз [12]. При действии малых доз ионизирующего излучения выявлены такие эффекты, как:

- нестабильность генома (повышенная частота образования генетических нарушений у потомков облученных клеток);
- гормезис (стимулирующий эффект радиационного воздействия, проявляющийся в стимуляции роста и других показателей);
- адаптивный ответ (увеличение устойчивости облученной особи к дальнейшему действию больших, повреждающих доз);
- эффект свидетеля (эффект проявления лучевых повреждений у необлученных клеток);
- канцерогенные эффекты [95].

Термин «радиационный гормезис» был введен в радиобиологию в 80-х годах XX века и постулировал, что в то время как высокие дозы радиации оказывают вредное воздействие на живые организмы (замедляя рост и развитие), низкие дозы, напротив, активируют почти все физиологические процессы [8; 544]. Конкретные величины малых доз зависят от вида и сорта растения. Известно, что растения сельскохозяйственных культур по радиочувствительности различаются в 2-10 раз, видовое различие составляет 1,5-15 раз, сортовое различие – 1,5-3 раза [54].

В процессе эволюции растения разработали эффективные механизмы адаптации, которые позволили им успешно существовать в биосфере при разнообразных условиях окружающей среды на протяжении тысячелетий. Различия в структуре и метаболизме клеток животных и растений делают последние более устойчивыми к радиационному воздействию [18484]. После облучения одинаковыми дозами в растительных клетках фиксируется в три раза меньше двухцепочечных разрывов ДНК по сравнению с клетками животных. Это связано с наличием у растений эффективной антиоксидантной защиты и более высоким уровнем избыточности репарационных систем по сравнению с животными [142].

Растения демонстрируют разнообразие в радиочувствительности, варьирующее от сине-зеленых водорослей, способных выдерживать дозы свыше 10000 Гр, до хвойных и лилейных, для которых полуметальная доза (LD_{50}) составляет всего несколько Гр. Уровень радиочувствительности растений в значительной мере зависит от их положения на филогенетическом дереве: голосеменные растения проявляют наибольшую чувствительность к радиации, однодольные покрытосеменные занимают промежуточное положение, а двудольные виды обладают большей радиорезистентностью [142]. Следует отметить, что семена более устойчивы к радиации по сравнению с растениями в вегетативной фазе [72]. Поэтому область доз стимуляции для семян смещена в сторону более высоких значений поглощенной дозы.

Для изучения определенных закономерностей, таких как связь радиоустойчивости семян растений с их филогенетическим положением, биохимическим составом, количеством и размерами хромосом, а также морфофизиологическими характеристиками зародыша, используются ряды радиоустойчивости. Е.И. Преображенская провела исследования на различных растительных видах из разных таксономических групп, подвергая воздушно-сухие семена облучению гамма-квантами в диапазоне доз от 5 до 3000 Гр при схожих мощностях. В качестве критерия радиоустойчивости семян была выбрана выживаемость растений к концу вегетационного периода, в результате чего выделили три группы видов в зависимости от степени радиоустойчивости их семян. Летальные дозы для указанных групп растений распределяются следующим образом: радиочувствительные виды имеют пределы от 150 до 250 Гр; среднерадичувствительные – от 250 до 1000 Гр; высокорадичувствительные – свыше 1000 Гр. Для семян культурного ячменя LD_{50} при воздействии гамма- или рентгеновского излучения составляет от 200 до 350 Гр [65].

Двудольные растения демонстрируют значительное разнообразие форм в отношении радиоустойчивости семян, при этом представители этого класса распределены относительно равномерно по всем трем категориям радиоустойчивости. Древесные и кустарниковые виды, как правило, обладают большей чувствительностью к радиации. Среди двудольных растений наивысшую радиоустойчивость семян показывают представители семейства крестоцветных.

Усиление ростовой функции растения при малых дозах облучения получило название радиостимуляции, а интервал доз, в пределах которого наблюдается эффект стимуляции, именуют интервалом стимулирующих доз, а иногда – «малыми дозами», хотя с точки зрения представлений о радиационно-химических реакциях эти дозы не так уж и малы. Систематические исследования влияния ионизирующего излучения на основные морфометрические параметры различных видов растений позволили определить примерный диапазон доз ионизирующего излучения со стимулирующим или ингибирующим эффектом.

Было показано, что рост и развитие растений ускорялись при облучении в диапазоне доз от 5 до 20 Гр (облучение семян) или 1-5 Гр (облучение вегетирующих растений). При превышении доз, полученных растениями, указанных пределов, наблюдалось угнетение их роста и развития [124]. Так, для некоторых культурных растений используют дозы излучения, часто упоминаемые как стимулирующие: горох – 3-10 Гр, хлопчатник – 5-30 Гр, кукуруза – 5-10 Гр, рожь озимая – 10 Гр, лен – 10 Гр, пшеница озимая – 25 Гр.

Важно подчеркнуть, что радиобиологический эффект зависит не только от величины поглощенной дозы, но и от мощности, то есть от того, как эта доза распределяется во времени. Снижение биологического действия излучения с уменьшением мощности дозы отмечено во многих работах на ряде биообъектов [40; 49]. Подобный эффект связывают с процессами восстановления, которые идут во время облучения.

Существование эффекта радиационной стимуляции подтверждено в разных лабораториях и на разных объектах, однако эффект не всегда наблюдается, и его природа объясняется исследователями по-разному. Гамма-облучение в малых дозах приводит к увеличению длины ростка и главного корня у семян ячменя [89]. В растениях, которые сформировались из семян, облученных в стимулирующих дозах, происходит увеличение накопления фитомассы, повышение продуктивности фотосинтеза, изменение водного режима. И все же далеко не во всех случаях удастся доказать, что причиной радиостимуляции этих физиологических процессов было прямое действие на них ионизирующих излучений; в большей части случаев они сопутствовали радиостимуляционному эффекту иных систем организма, скорее всего регуляторного характера, а повышенная интенсивность биосинтезов и дыхания, как правило, сопряжена с запросами более мощных ростовых процессов.

Широкий спектр стрессовых факторов может вызывать положительные реакции у растительных организмов. К таким факторам относят: тяжелые металлы, ионизирующие и неионизирующие излучения, импульсное давление, пестициды и другие вещества.

Например, после обработки семян растворами кадмия, хрома, свинца, алюминия в низких концентрациях было зафиксировано увеличение длины проростков у многих культурных растений [121]. Воздействие импульсным давлением в интервале 11-29 МПа на семена гречихи стимулирует физиологические процессы растения, что повышает урожайность [58]. Лазерная предпосевная обработка семян сахарной свеклы и пшеницы приводит к увеличению сахаров [147], всхожести и урожайности в полевых условиях [134]. Обработка семян *Triticum aestivum* L., *Trifolium pratense* и других культур низкотемпературной плазмой способствует усилению интенсивности фотосинтеза и значительному росту активности амилазы и каталазы [29]. Гамма-облучение в дозах от 2 до 30 Гр увеличила параметры роста

(процент всхожести, длину корня и гипокотилия) и содержание фотосинтетических пигментов у *Lactuca sativa* var. *capitata* [155].

Однако, для мутационной селекции чаще всего используют ионизирующее излучение. Согласно The Joint FAO/IAEA Centre of Nuclear Techniques in Food and Agriculture (Mutant Variety Database) примерно 78% всех зарегистрированных мутантных сортов являются результатом действия физических мутагенов. Приблизительно 69% этих сортов были созданы гамма-лучами и около 22% – рентгеновскими лучами [173]. Гамма-излучение является широко используемым мутагенным агентом в программах селекции растений из-за его способности вызывать мутации, вызывая изменения в последовательности ДНК [160]. Оно позволяет создавать генетическую изменчивость, не изменяя общую генетическую структуру сорта, сохраняя желаемые признаки и вводя новые [148]. Более того, гамма-излучение можно применять к вегетативным частям, таким как черенки, что особенно полезно для вегетативно размножаемых культур [135; 144].

Японские ученые получили ряд мутантов *Arabidopsis* с помощью облучения пучками ионов углерода, таких как мутант «Ast» [98], мутант «Frl1» с зубчатыми лепестками [138] и мутант «Uvi1» с устойчивостью к УФ-В [103].

Многие ученые высказывают мнение, что положительные эффекты возникают благодаря «адаптивной реакции организма на стрессовые воздействия» [62; 83]. Слабые внешние воздействия, включая ионизирующее излучение в малых дозах, активируют защитные механизмы внутри клеток. Согласно модели, предложенной авторами [133], влияние малых доз ионизирующего излучения на клетку имеет противоречивый характер в отличие от действия высоких доз: с одной стороны, наблюдается повреждение ДНК, а с другой – формируется сигнал, который инициирует процессы восстановления ДНК и активирует физиологические функции. В результате возникают эффекты радиационной стимуляции, которые являются следствием реакций на ионизирующее излучение [57]. Адаптационные возможности организма к низким уровням повреждающих факторов способствуют повышению его устойчивости к высоким дозам подобных или других агентов и, вероятно, предоставляет преимущества в условиях стресса [157]. Сообщается, что кривая толерантности Шелфорда и модель радиационного гормезиса дополняют друг друга. Гормезис растений локализуется в стрессовой зоне кривой, когда адаптивные механизмы отключены в пределах экологического оптимума [129].

Редкоионизирующее излучение, обладая возможностью косвенно действовать на биообъекты, приводит к развитию окислительного стресса из-за увеличения уровней активных форм кислорода (АФК) в клетках [45; 52]. АФК жизненно необходимы для нормального

функционирования организма, так как они участвуют в регуляции метаболизма [112]. При высоких уровнях АФК происходит повреждение биомолекул, тогда как при умеренных концентрациях они выступают как вторичные сигнальные молекулы во внутриклеточных каскадах, регулирующих различные реакции в растительных клетках [177]. Радиационный стресс отличается от окислительного стресса иных типов, прежде всего уровнем, пропорциями и внутриклеточной локализацией или, если быть точнее, распределением АФК внутри клетки, что, в свою очередь, влияет на активность ферментов антиоксидантной системы (АС). Чтобы справиться с различными типами экологических стрессов, растения разработали различные стратегии. Для поддержания баланса уровней АФК растения синтезируют различные ферментативные и неферментативные антиоксиданты, которые уравнивают, но не устраняют АФК, поскольку, как говорилось ранее, полное уничтожение АФК означает потерю важного мессенджера во внутриклеточных сигнальных каскадах [101]. Чтобы уменьшить пагубное воздействие избытка АФК, растительные клетки могут удалить их с помощью антиоксидантной системы, состоящей как из ферментативных, так и неферментативных антиоксидантов [104; 168]. Ферментативная система в основном включает в себя такие ферменты как супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, аскорбатпероксидаза, глутатионпероксидаза и глутатион-S-трансфераза. Неферментативная система представлена главным образом такими низкомолекулярными антиоксидантами, как глутатион, аскорбиновая кислота и флавоноиды, которые, как известно, удаляют гидроксильные радикалы и синглетный кислород [176].

Стоит отметить, что исследователи отводят существенную роль соотношению активности ключевых ферментов АС в развитии положительных эффектов у растений после предпосевного облучения гамма-квантами [118; 175]. Эксперименты, проводимые в течение нескольких лет, в полевых условиях Поволжья [49] показали, что при облучении дозами от 2,5 до 5 Гр семян пшеницы, сахарной свеклы – от 10 до 12 Гр, а томатов и огурцов – от 2,5 до 3 Гр активируются ферменты из класса оксидоредуктаз. Оксидоредуктазы осуществляют гидролиз запасных веществ, в частности α - и β -амилаз, на 2-3 сутки прорастивания семян. В результате наблюдается более активное использование питательных веществ, усиление интенсивности дыхания (как реакция на раздражимость) и активности каталазы.

Избыток АФК может привести к непоправимой метаболической дисфункции и даже к гибели клеток в результате прямого воздействия на фотосинтетические пигменты, мембранные липиды, белки и нуклеиновые кислоты [106].

Соотношение свободных радикалов играет ключевую роль в возникновении стимулирующих эффектов. Объяснение радиационного гормезиса связано с активацией

метаболических процессов, которые способствуют восстановлению ДНК от повреждений, вызванных низкими дозами ионизирующего излучения [60].

Таким образом, биологические эффекты ионизирующего излучения имеют и качественные, и количественные различия в зависимости от типа и дозы ионизирующего излучения. В ответ на облучение у растений действуют сложные механизмы восстановления повреждений, которые регулируются ферментами и различными низкомолекулярными соединениями. Эта непростая система позволяет сохранять жизнеспособность организмов, даже при увеличении дозы облучения.

1.2 Ячмень как востребованная сельскохозяйственная культура

Ячмень (лат. *Hordeum*) принадлежит к семейству Poaceae (Злаки), которое также включает пшеницу, кукурузу, рис, и рожь. Эти члены Poaceae, включая ячмень, являются основными зерновыми культурами, выращиваемыми во всем мире. Ячмень используется в качестве корма для животных, для соложения и в качестве источника пищи для человека.

Ячмень в мировом растениеводстве в 2021 году возделывался на общей площади до 60 млн. га, что определило его пятым в списке сельскохозяйственных культур после пшеницы, риса, кукурузы и сои [3]. Поскольку ячмень является самоопыляемым и имеет диплоидный геном ($2n = 14$), он признан генетической моделью трибы Triticeae [140]. Ячмень выращивается сейчас во всех регионах с умеренным климатом. Вегетационный период ячменя (от всходов до созревания) зависит от сорта и условий выращивания. Ячмень – один из злаковых культур, который созревает раньше всех. Раннеспелые сорта ячменя созревают в течение 53-60 дней, позднеспелые за 100-120 дней. Плод – зерновка. Зерно ячменя может прорасти при 1-3°C, но наиболее благоприятная температура 20-23°C. Ячмень обладает повышенной жароустойчивостью, которая связана с его скороспелостью, а также способностью интенсивно использовать питательные вещества в ранние фазы роста. К недостатку воды ячмень наиболее чувствителен в фазе выхода в трубку. По ГОСТу 28672-90 влажность семян ячменя должна составлять 14,5% [13].

Хозяйственное значение и использование ячменя определяется его химическим составом. В среднем ячменное зерно содержит 12% белка, 65% углеводов, 2,2% жира и используется для производства муки для выпечки, ячневой и перловой круп, а также суррогата кофе, реже – для хлеба. В белковом комплексе ячменя присутствует более 20 аминокислот, из

которых 8 являются незаменимыми. Уровень лизина в ячменном белке невысок и составляет примерно 2,5-3,2%.

В ячмене углеводы представлены в основном крахмалом, целлюлозой, гумми, гемицеллюлозой, водорастворимыми сахарами и продуктами расщепления различных полисахаридов. Моносахариды в зерне включают глюкозу и фруктозу, а дисахариды представлены сахарозой. Сахароза в основном содержится в зародыше и алейроновом слое, тогда как фруктоза и глюкоза находятся в эндосперме.

Состав ячменного зерна характеризуется оптимальным соотношением белков (до 15,5%). Большая часть белковых веществ сосредоточена именно в ячменном зерне. Содержание белка в ячмене зависит от сорта, но также на него влияют и факторы окружающей среды. Формирование количественного и качественного состава белка в зерне различных сортов ячменя, отличающихся по назначению и происхождению, изменяется под воздействием резкоконтрастирующих природно-климатических условий [17].

В благоприятных условиях фаза прорастания семени длится от 2 до 5 дней. В этот период ячмень наиболее чувствителен к неблагоприятным факторам окружающей среды: недостатку влаги, низким температурам и др. Универсальность этой культуры позволяет ученым работать на различных уровнях организации: молекулярном (цитогенетика – митотический индекс, хромосомные aberrации), клеточном (биохимия процессов клеточного дыхания, активности ферментов и др.), тканевом и организменном (морфологические показатели).

Использование районированных сортов ячменя в исследованиях имеет большое значение для повышения эффективности сельского хозяйства и обеспечения продовольственной безопасности. Районированные сорта ячменя адаптированы к определенным климатическим и почвенным условиям отдельных регионов, что позволяет обеспечить более высокую урожайность и устойчивость к неблагоприятным факторам конкретных территорий. Сортные отличия обеспечиваются генетической изменчивостью, следовательно, различиями в сигнальных путях и отклику на разные типы стрессоров. В данной работе мы рассмотрим 3 районированных сорта: Ладны, Витязь и Бадьорий.

Сорт Витязь был выведен с использованием сложной ступенчатой гибридизации (Поволжский НИИСС) и относится к разновидности нутанс, среднеспелый, вегетационный период длится 75-85 дней. Зерно крупное, эллиптической формы, масса 1000 зерен составляет 50-55 г. Высота растений составляет примерно 70-95 см. Соломины толстые и прочные, ости длинные, эластичные и зазубренные. Колос рыхлый, имеет соломенно-желтый цвет. Колосковая чешуя средней длины и ланцетной формы. У основания зерновки короткая

войлочная щетинка. Окраска стеблевых узлов отсутствует. Сорт демонстрирует высокую адаптацию к неблагоприятным абиотическим условиям и устойчивостью к основным заболеваниям и внутрестебельным вредителям. Устойчивость к полеганию и осыпанию зерна средняя. Он засухоустойчив и способен обеспечивать высокую стабильную урожайность в условиях засушливого климата. Потенциальная урожайность зерна превышает 5,0 т/га. Содержание белка в зерне – 13,4%, крахмала – 59% [59].

Сорт Бадьорий (Институт растениеводства им. В.Я.Юрьева, Украина). Год внесения в Государственный реестр сортов растений, пригодных для распространения в Украине – 1999. Разновидность – субмедикум. Растения средней высоты (68-80 см). Ости длинные, зазубренные только в верхней части. Колос двухрядный, цилиндрический, средней длины и имеет сильный восковой налет. Стерильный колосок занимает положение от параллельного до едва отклоненного. Цветковые чешуи тонкоморщинистые, со слабо выраженной нервацией, постепенным переходом в ость. Зерна эллиптические, желтые, пленчатые. Основная щетина длинноволосистая. Масса 1000 зерен 48-50 г. Среднеспелый, продолжительность вегетации 80-90 дней. Устойчив к полеганию (8,5-9,0 баллов), среднеустойчив к засухе (6,3-7,2 балла). Сорт устойчив к поражению возбудителями летучей и каменной головни (8 баллов) и мучнистой росы (7 баллов). Сорт Бадьорий полуинтенсивного типа. В производственных условиях урожайность сорта достигала 5,55 т/га (Купянска ДСДС Харьковская обл.) и 7,31 т/га (ДПДГ «Красный Октябрь» Харьковская обл.). Потенциальная урожайность 8,5-9,5 т/га. Зерно имеет высокие пивоваренные качества: экстрактивность – 81,3%, содержание белка 10,3-11,0%, содержание крахмала 61,0-62,5%, выравненность 99,0%, диастатическая сила 284 WK, фриабильность 86,8%, содержание β -глюканов 127 ppm [25].

Сорт Ладны был выведен в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» и был включен в Государственный реестр в 2009 году. Средняя масса 1000 семян составляет 47,2 г, а натура зерна – 634 г/л. В фазе кущения растения имеют полупрямостоячий или промежуточный тип. Высота стебля достигает 100 см, а колос располагается горизонтально. Колос двурядный, цилиндрической формы, длиной 15 см, с 12-14 колосками в колосе. Ости длинные по сравнению с колосом, а стерильный колосок находится в средней части колоса, параллельно его оси. Зерно имеет пленчатую оболочку, брюшная бороздка гладкая, без опушения, а алейроновый слой зерна слегка окрашен. Сорт относится к яровым и является среднепоздним. Вегетационный период в среднем по Беларуси составляет 83 дня. Сорт отличается однородностью в росте и созревании, проявляет устойчивость к грибковым заболеваниям и полеганию. Содержание белка в зерне составляет 13,4%, а крахмала – 59%. Данный сорт относится к кормовому направлению [64].

Таким образом, исследование районированных сортов ячменя является ключевым элементом для повышения эффективности сельского хозяйства и обеспечения продовольственной безопасности.

1.3 Изменение интенсивности фотосинтеза как признак стресса

Как известно, одной из наиболее чувствительных к абиотическому стрессу клеточных систем является фотосинтетический аппарат. Хлоропласты (особенно тилакоиды) чрезвычайно чувствительны к гамма-облучению по сравнению с другими органеллами клеток [126]. Несмотря на то, что различные аспекты и функционирования фотосистем (ФС) подробно изучены в работах С. И. Аллахвердиева [2], формирование устойчивости фотосинтетического аппарата к стрессовым факторам недостаточно исследовано. Изучение формирования стресс-устойчивости фотосинтетического аппарата позволит найти наиболее эффективные пути повышения устойчивости растений к неблагоприятным факторам среды.

Усиление антиоксидантной активности и повышение концентраций низкомолекулярных антиоксидантов, которые регулируются пулом АФК и других сигнальных интермедиатов, является ключевым путем повышения стресс-устойчивости фотосинтетического аппарата [53; 75].

В процессе фотосинтеза зеленых растений основную роль в «сборе света» играют хлорофиллы – пигменты, при участии которых осуществляется непосредственно процесс фотосинтеза. Химическая структура хлорофилла представляет собой кольцо, состоящее из четырех пиррольных циклов (тетрапиррол или порфирин), в центре которого находится атом Mg^{2+} . К кольцу «С» прикреплено пятое циклопентановое кольцо. В кольце «D» остаток пропионовой кислоты образует эфир с фитолом, который имеет гидрофобный хвост, обеспечивающий хорошую растворимость хлорофилла в неполярных растворителях. В кольце «В» хлорофилл b содержит формальдегидную группу, тогда как хлорофилл a имеет метильный остаток. Это небольшое различие приводит к значительным изменениям в спектре поглощения [84].

Только хлорофилл a выступает в роли основного элемента реакционных центров ФС, что делает его главным пигментом, отвечающим за фотосинтез. Однако, на участке «зеленого провала» хлорофилл a не поглощает, поэтому для расширения спектров поглощения, растения используют вспомогательные пигменты. Например, хлорофилла b: его первый максимум лежит в области 660 нм, а второй – 460 нм, по сравнению с максимумами хлорофилла a – 700 и

440 нм. Хлорофилл *b* является обязательным элементом фотосинтетического аппарата высших растений и играет ключевую роль в регуляции процессов биосинтеза и распада светособирающих антенных комплексов. Размер и стабильность антенн фотосинтетического аппарата имеют значение не только для фотосинтетической активности, но и выступают источником регуляторных сигналов, которые могут выходить за пределы хлоропластов. Нехватка хлорофилла *b* снижает эффективность фотосинтеза, задерживает цветение и запускает преждевременные процессы старения. У мутантов *Arabidopsis thaliana* L. и *Hordeum vulgare* L. отсутствие хлорофилла *b* приводило к уменьшению скорости роста, биомассы и размеров листьев [81].

Таким образом, хлорофилл *b* необходим для эффективного использования солнечной энергии, и, нужно определять степень интенсивности фотосинтеза не только по концентрации хлорофилла *a*, а также учитывать концентрацию хлорофилла *b*.

В работе [172] показана положительная корреляция между урожайностью риса посевного (*Oryza sativa*) и состоянием фотосинтетической системы (в частности, содержания хлорофиллов) растений. При низком частном и суммарном количестве хлорофиллов в тканях растений эффекты связываются с повреждением тканей растения гамма-излучением, нарушениями синтеза белков и гормональным дисбалансом при облучении растений высокими дозами гамма-облучения.

А. Сен, С. Аликаманоглу и О. Ячили исследовали влияние гамма-облучения широкого диапазона доз на состояние биохимических параметров, роста и накопления следовых элементов в сое [182]. После облучения 4 000 образцов в различных дозах и культивации в боксах в течение 14-ти дней показано, что с возрастанием дозы высота растений, зеленая масса и концентрация хлорофиллов снижалась обратно пропорционально дозе. Содержание следовых элементов (цинк, железо, медь), патологических форм белков и малонового диальдегида повышалось, в то время как активность супероксиддисмутазы и ферментов группы пероксидаз значительно снижалась.

Гамма-облучение черенков крыжовника в дозе 5 Гр, черенков красной и черной смородины в дозе 20 Гр приводило к улучшению укоренения, увеличению концентраций хлорофиллов и, что ожидалось, увеличению урожая красной смородины на 63%, крыжовника на 60%, а черной смородины на 16% [49].

По мнению исследователей из Кореи, содержание хлорофилла при облучении гамма-лучами и протонами сильно различаются. Облучение гамма-квантами *Vigna unguiculata* (L.) Walp в дозах от 100 до 500 Гр показало дозозависимое снижение содержания хлорофиллов *a* и

b, а также общего хлорофилла. При облучении протонами не выявлено достоверных различий между контрольными и опытными группами [173].

Анализ флуоресценции хлорофилла на стадии цветения у чабера (*Satureja hortensis* L.) после гамма-облучения в дозе 300 Гр показал снижение эффективности ФС II на 1,82% и эффективность системы поглощать свет на 18,92% по сравнению с контролем. Поглощение света на реакционном центре повышалось на 6%, захват электронов – на 4%, рассеиваемая энергия – на 15%. Самый высокий уровень хлорофилла b был обнаружен в растениях, появившихся из семян, после гамма-облучения в дозе 100 Гр, что в 3,5 раза больше, чем в контрольной группе, а общий уровень хлорофиллов увеличился на 42%. Все дозы гамма-облучения (50, 100, 200 и 300 Гр) отрицательно влияли на содержание антоцианов и соотношение хлорофилла a/хлорофилла b [128].

Исследование влияния протонного облучения с энергией 57 МэВ на элитный корейский сорт сои (*Glycine max* L. Merr.) Pungsannamul выявило снижение концентраций хлорофилла b и общего хлорофилла после облучения в дозах 100 Гр и выше [108].

Изменение уровней фотосинтетических пигментов – универсальный физиологический показатель состояния растительных организмов. Исследование фитоурбоценозов г. Калининграда показало, что загрязнение участков газовыми выбросами автотранспортных средств оказывает угнетающее действие на древесные и травянистые растения. При повышении уровня техногенного загрязнения наблюдалось уменьшение концентраций зеленых пигментов. На участках с максимальным показателем загрязнения атмосферного воздуха автомобильными газами в листьях *Tilia cordata* Mill. содержание хлорофиллов a и b снижалось в 2 и 3,7 раза соответственно, в хвое *Picea abies* (L.) Karst. – в 1,5 и 1,9 раза по сравнению с контролем. В листьях *Taraxacum officinale* Webb. и *Plantago major* L. – в 1,3; 1,8 и в 1,4 и 1,5 соответственно. Отмечено, что в большей степени происходит снижение уровня хлорофилла b, чем хлорофилла a [88].

Каротиноиды являются тетратерпеноидами (8 остатков изопрена). У высших растений и водорослей каротиноиды преимущественно представлены β-каротином. Наряду с этим у высших растений, зеленых и красных водорослей имеется α-каротин. В хлоропластах высших растений и зеленых водорослей преобладают следующие ксантофиллы: лютеин, виолаксантин и криптоксантин, зеаксантин и неоксантин. Каротиноиды входят в состав каждого пигментно-белкового комплекса фотосинтетического аппарата высших растений. Эти пигменты, ранее называемые «вспомогательными», теперь признаны незаменимыми в сборе света, защите от фотоокисления и регулировании эффективности ФС II. Каротиноиды забирают на себя энергию от триплетного состояния хлорофилла, которое приводит к перевозбуждению реакционного

центра. Взаимодействие триплетных хлорофиллов с молекулярным кислородом, который также имеет триплетную спиновую конфигурацию в своем основном состоянии, приводит к образованию высокореакционноспособного синглетного кислорода и повреждению фотосинтетического аппарата, которое называется фотоингибированием [194]. Фотофизическая часть фотосинтеза, включающая поглощение энергии света, процессы миграции и преобразования энергии с участием ксантофиллового цикла, который снижает фотохимическую эффективность ФС II за счет рассеивания энергии в светособирающих комплексах (ССК/LHC) имеет большое значение в формировании устойчивости растений к низким положительным температурам [87]. Различные химические загрязняющие вещества (например, тяжелые металлы) приводят к снижению концентраций каротиноидов у растительных организмов [74]. Установлено, биосинтез фотосинтетических пигментов нарушается под действием тяжелых металлов [82], однако, биосинтез каротиноидов менее подвержен их негативному воздействию [80].

1.4 Пролин как индикатор состояния растений в условиях стрессовых воздействий

Растения как прикрепленные биообъекты выработали многочисленные механизмы адаптации к стрессовым условиям. Они реализуются в комплексе на уровне интактного растения, на клеточном и молекулярном уровнях. Поскольку уровень стрессоустойчивости может в значительной степени меняться в онтогенезе, то приоритет механизмов также варьирует во времени. Однако в то же время известны ряд осмотически активных соединений, которые при любых обстоятельствах способствуют поддержанию жизнедеятельности растений, действуя на различных уровнях. К таким соединениям относится пролин [7; 73].

Пролин – это гетероциклическая аминокислота, которая накапливается как в стрессовых, так и в нестрессовых условиях в качестве полезного растворенного вещества в растениях. Пролин накапливается в цитозоле, не повреждая клеточные структуры, и является важной частью физиологической адаптации многих видов растений к стрессу [170]. Помимо метаболизма пролина, внутриклеточный транспорт пролина происходит между цитозолем, хлоропластами и митохондриями [117]. При стрессовых воздействиях содержание пролина увеличивается многократно. Недавние открытия указывают на то, что пролин играет важную роль на протяжении всего жизненного цикла. Он выступает в качестве основного детерминанта множества белков клеточной стенки, которые имеют важное значение для развития растений [179]. Накопление пролина помогает растениям приспособиться к стрессовым

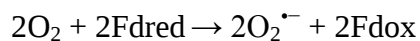
условиям, защищая от инактивации белки, ДНК, ряд ферментов и другие клеточные компоненты. Одним из химических свойств пролина является его способность «тушить» синглетный кислород и гидроксил радикал. Значительное увеличение уровней свободного пролина при засолении, засухе, УФ-облучении, действии тяжелых металлов считается универсальной реакцией растений на стресс. Под действием стресса, в клетках растений пролин составляет около 5% от всего пула свободных аминокислот [78].

Пролин относится к числу самых универсальных метаболитов растений, связанных со стрессом. В настоящее время установлено, что помимо своей осмопротекторной роли, пролин также выполняет шаперонную, антиоксидантную и функции регулятора сигнальных путей. Эта аминокислота также осуществляет ряд функций, не связанных с адаптацией растений к стрессовым условиям. Накопление пролина считается одним из ключевых сигналов, инициирующих переход к цветению, и играет важнейшую роль в нормальном развитии пыльцы и семян [178; 156].

Выявлены антиоксидантные эффекты пролина, которые ассоциируют с его способностью к прямому взаимодействию с АФК, в т.ч. со свободными радикалами, а также с косвенными эффектами (влиянием на активность антиоксидантных ферментов). В последние годы получены сведения о возможности вовлечения пролина в регуляцию экспрессии генов антиоксидантных ферментов. Индуцирование синтеза пролина при стрессовых воздействиях на растения происходит с участием ряда сигнальных (ионы кальция, АФК) и гормональных (абсцизовая (АБК) и салициловая кислоты) посредников [48]. Так же известно, что АБК-зависимые и АБК-независимые сигнальные пути опосредуют накопление пролина [117].

Несмотря на многолетнее изучение физиологических функций «стрессового» пролина, многие вопросы, связанные с его участием в адаптации растений к неблагоприятным условиям, далеки от полного выяснения. Таким образом, остается неясным, каким образом соотносятся прооксидантные и антиоксидантные свойства пролина, каким образом он взаимодействует с другими защитными системами растительных клеток, в частности с ферментативными антиоксидантами. Кроме того, неизвестно, каким образом взаимодействуют сигнальные и гормональные посредники друг с другом при регуляции уровня пролина у растений в условиях стресса.

Сообщается, что пролин участвует в регуляции окислительно-восстановительного баланса клеток путем изменения пропорции $\text{НАДФ}^*\text{Н}/\text{НАДФ}^+$. В стрессовых условиях, например, при действии засухи, засоления, высоких температур, происходит ограничение фиксации CO_2 , вследствие чего пул $\text{НАДФ}^*\text{Н}$ расходуется слабо, что увеличивает вероятность «утечки» в ФС I электрона от ферредоксина к молекулярному кислороду в реакции Мелера:



ФС II является основным источником синглетного кислорода, который образуется в результате перехода хлорофилла P_{680} в триплетное состояние в реакционных центрах ФС II и/или в ССК. Вероятность образования синглетного кислорода также увеличивается при перевосстановленности электрон-транспортной цепи в результате поглощения света высокой интенсивности или действия других стресс-факторов. Активация в хлоропластах биосинтеза пролина в стрессовых условиях усиливает расход НАДФ*Н и увеличивает количество НАДФ⁺, который может быть использован в качестве акцептора электронов. Таким образом, синтез пролина, снижая соотношение НАДФ*Н/НАДФ⁺, может способствовать поддержанию потока электронов в электрон-транспортных цепях хлоропластов, стабилизировать окислительно-восстановительный баланс, уменьшать фотоингибирование и повреждения фотосинтетического аппарата [50].

Недавно появились сведения о том, что пролин может влиять на рост и развитие растений путем координации с биосинтезом лигнина [171].

Исследование эффектов после гамма-облучения семян пажитника сеного (*Trigonella foenum-graecum* L.) в дозах 25, 50, 75 и 100 Гр выявило увеличение содержания пролина в листьях на 45-ые сутки проращивания [145].

Так же известно, что в стрессовых условиях под влиянием пролина уменьшается концентрация продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида (МДА) в растительных тканях [48]. Исходя из вышеизложенных фактов, можно сделать вывод, что увеличение содержания пролина показывает изменение клеточного гомеостаза и может свидетельствовать о стрессовом состоянии организма, а накопление аминокислот, в частности пролина, дает возможность исследовать пути интеграции, регуляции и изменения метаболических процессов в подвергшихся стрессу фотосинтезирующих тканях.

1.5 Малоновый диальдегид – показатель окислительного стресса

АФК приводят к перекисному окислению липидов, вызывая в остатках полиненасыщенных жирных кислот цепные реакции с образованием липидных радикалов $\text{L}^{\bullet}$, пероксидов $\text{LOO}^{\bullet}$, гидропероксидов $\text{LOOH}^{\bullet}$ и алкоксидов $\text{LO}^{\bullet}$. В результате цепных реакций жирные кислоты образуют спектр соединений, в основном это альдегиды, которые обладают высокой биологической активностью и достаточно сильно токсичны. При распаде жирных кислот сначала образуются диеновые конъюгаты, а затем такие метаболиты, как МДА [1; 44]. В

исследовании, проведенном рядом авторов, показано увеличение активности ПОЛ мембран под действием стрессовых факторов среды на березы повислой (*Betula pendula*) [39]. Содержание МДА может отражать адаптационную способность растений [85].

Известно, что ультрафиолетовое излучение активирует перекисное окисление липидов (ПОЛ) в зерновках пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Приленская 19, которое проявляется в повышении содержания МДА и антиоксидантов. Резкое увеличение ПОЛ отмечено в зародыше семян в 5,5 раза, эндосперме – в 4,9, в щитке – в 2,5 раза. При этом антиокислительная активность повышалась в эндосперме в 1,5 раза, а в зародыше и щитке на 5-8% [71]. Продукция АФК, вызванная УФ-излучением, может приводить к перекисному окислению липидов и повышенному накоплению МДА в зернах [150], а также к снижению эффективности фотосинтеза у оливковых деревьев [165; 193].

В исследовании К. Г. Караевой и Э. С. Джафарова [43] рассмотрена степень повреждения мембран клеток на основе содержания продукта перекисного окисления липидов – МДА, в двух поколениях баклажана обыкновенного (*Solanum melongena* L.), семена которых перед первым посевом подверглись облучению гамма-квантами. Замечено, что увеличение содержания МДА при низких дозах (от 1 до 10 Гр) носит монотонный характер, а при высоких дозах (10-100 Гр) оно характеризуется резкорезонансной кривой.

Криостресс, как и другие абиотические стрессоры, влияет на содержание МДА в растительных тканях. Исследователями изучены активность антиоксидантных ферментов и концентрации осмолитов в проростках *Secale cereale* L., *Triticum aestivum* L. и *Hordeum vulgare* L. после 7-суточного закаливания при 2°C и 5-часовому промораживанию при -6°C. Промораживание незакаленных проростков вызывало значительное повышение уровня МДА у ячменя, у пшеницы мягкой отмечалось небольшое увеличение его количества, а у озимой ржи уровень не изменялся [47].

Еще один эксперимент по изучению развития окислительного стресса у растений провела Л. Н. Скрыпник. Сочетанному воздействию света высокой интенсивности и дефицита цинка подвергали растения *Brassica rapa* var. *chinensis*. Показано, что после 12-ти часов экспозиции, в листьях происходило снижение содержания хлорофиллов и увеличивалась концентрация МДА, что говорит об образовании в клетках избыточных количеств свободных радикалов. Установлено, что при добавлении в питательную среду селена, происходит снижение уровня МДА и снижение накопления пролина [76].

Известно, что действие тяжелых металлов усиливает образование свободных радикалов, которые в свою очередь индуцируют процессы ПОЛ и вызывают развитие деструктивных процессов, как на уровне клетки, так и всего организма. К примеру, содержание МДА в

проростках *Thlaspi arvense* L. увеличивалось на 19-84% при воздействии CdCl_2 в концентрациях 10, 20, 40 и 80 мкМ [82].

Установлено, что гамма-облучение в дозе 5 Гр повышало выживаемость и стимулировало прорастание луковиц *Tulipa gesneriana* L., в то время как дозы облучения от 20 до 100 Гр значительно ингибировали прорастание и рост семян, а также снижали скорость цветения, количество лепестков, длину стебля и диаметр цветка. Дозы гамма-облучения более 40 Гр значительно снижали общее содержание хлорофиллов и повышали уровень МДА [110].

1.6 Митотический индекс и частота цитогенетических нарушений после действия ионизирующего излучения

Митотический индекс (МИ) является универсальным и информативным показателем ответа клетки на различные неблагоприятные факторы воздействия и отражает роль контроля клеточного цикла в формировании ответа клеток на внешние воздействия. Кроме фенотипических изменений в проростках, выращенных из семян, облученных гамма-квантами в низких дозах, наблюдали ускорение клеточного деления, увеличение размеров побега и главного корня, а также стимуляцию прорастания [143]. Воздействие гамма-квантов в дозе 0,5 Гр на первый клеточный цикл в корневой меристеме ячменя приводили к увеличению активности деления клеток, что связано с сокращением длительности S-фазы, G2-фазы, профазы и анафазы митоза [164].

Считается, что задержка деления определяется задержкой профазы. Ионизирующее излучение приводит к нарушению синтеза ДНК и процессов редупликации и, как следствие, затруднению конденсации хромосом в профазе [56]. В настоящее время изменения в динамике деления клеток связывают с действием регуляторов прохождения клеточного цикла, осуществляющимся во время перехода между фазами. Решающими моментами в регуляции клеточного цикла являются переходы между G1/S и G2/M [181].

Установлено, что гамма-облучение в стимулирующих дозах *Vicia faba* L., *Triticum aestivum* L. и *Zea mays* приводило к сокращению длительности клеточного цикла на 2–4 ч. При этом у представителей семейства бобовых цикл укорачивался главным образом за счет G1-фазы, а у семейства злаков – за счет G1- и G2-фаз [34].

В работе Куликовой Т. И. установлено, что облучение семян *Hordeum vulgare* L. в дозах 5-100 Гр имеет одностипный повреждающий характер [53]. Степень проявления повреждающего

действия ионизирующей радиации оказывается сильнее и наступает раньше, чем выше доза облучения. Облучение вызывает разнообразные радиационные изменения в клетке: появление радиационной депуринизации ДНК, значительное повышение содержания ДНК-фуксина в ядрах без предварительного гидролиза и задержку продвижения клеток по фазам митоза.

Другой генетический тест, основанный на визуальном учете цитогенетических эффектов – ана-телофазный тест. Этот метод широко используется в тестах различных направлений, включая анализ проб из окружающей среды (вода, почва, донные отложения), вещества антропогенного происхождения и излучения разных спектров. Преимуществом данного анализа является его универсальность и простота в подготовке образцов. Однако, в ана-телофазном тесте выявляются не все виды генетических поломок, но чувствительность этого метода достаточна для проверки на мутагенность агента любой природы: физическое, химическое, биологическое воздействия – он применим лишь тогда, когда клетки пролиферируют. Таким образом, ана-телофазный тест отлично подходит для всех объектов с митотической активностью.

На стадии анафазы и телофазы митоза подсчитывают классические типы цитогенетических нарушений, которые представляют собой ацентрические фрагменты и кольца, отставшие хромосомы и мосты. Часто в отдельный тип включают отставания и забегания, которые указывают на изменения ахроматинового веретена деления.

Ацентрические фрагменты и кольца могут встречаться как в одиночном, так и в парном виде. Они располагаются либо между дочерними звездами, либо в стороне от них. Основная задача ана-телофазного теста заключается в том, чтобы отличить их от отстающих хромосом и определить, являются ли они одиночными или парными.

Мосты делятся на хромосомные и хроматидные. Хромосомный мост представляет собой дицентрическую хромосому, состоящую из двух хроматид, которые чаще всего перекрещены. Хроматидный мост, в свою очередь, представляет собой одиночное образование, сформированное из одной дицентрической хроматиды. К сожалению, не всегда возможно четко различить тип моста, поэтому разделение на хромосомные и хроматидные мосты может быть нецелесообразным при использовании общего метода окрашивания хромосом, который не позволяет различать отдельные хроматиды. Отстающие хромосомы или хроматиды обычно легко идентифицируются, так как в них можно наблюдать центромеру или неоднородность структуры, что не характерно для фрагментов.

Исследование воздействия гамма-излучения в диапазоне доз от 10 до 140 мГр на семена лука (*Allium cepa* L.) выявило достоверное увеличение числа ана-телофазных клеток с

цитогенетическими нарушениями, начиная с поглощенной дозы 20 мГр. При этом количество аномальных клеток возрастало при увеличении поглощенной дозы и времени воздействия [36].

Гераськин С. А. с соавторами [86] провели анализ частоты цитогенетических нарушений в популяциях *Koeleria gracilis* Pers., произрастающих на участках Семипалатинского испытательного полигона. Основной вклад в общий спектр цитогенетических нарушений вносили отставания хромосом, а также одиночные и двойные мосты.

При действии высоких доз ионизирующих излучений поражаются структура и функции генома, что проявляется в общем увеличении доли клеток с цитогенетическими нарушениями (мостами и фрагментами), а также задержкой и даже полным подавлением митозов [35].

Схожие данные получены для ячменя в работе Н.В. Лариковой [55]. Согласно этому исследованию, основные производственные отходы рудника «Веселый», содержащие тяжелые металлы перерабатываемых руд и специфические вещества технологии их обогащения на золотоизвлекательной фабрике, проявляют генотоксическое действие на корневую меристему ячменя. При этом известно, что тяжелые металлы действуют аналогично радиации. Для того, чтобы назвать химический элемент, требуется, чтобы его относительная атомная масса превышала 40. Фитотоксичное действие тяжелых металлов проявляется в антагонистическое действие на систему клетки, сравнимым с воздействием ионизирующего излучения. При воздействии высоких доз ионизирующих излучений поражаются сам геном организма, как следствие появляются клетки с мостами и фрагментами, и наступает угнетение, задержка и тотальное подавление делений клетки.

Существует ряд версий ана-телофазного анализа. Оригинальный вариант анализа принадлежит Fiskesjo G. [136]. Согласно описанию, на препарате просчитываются первые 100 клеток в стадиях анафазы и телофазы, из которых отмечаются клетки с абберациями. Второй вариант применялся Прохоровой И. М., и эта более поздняя вариация предполагала, что прочитывается весь препарат и все анафазы и телофазы на данном препарате, среди которых регистрируются абберантные клетки [65].

1.7 Изменение экспрессии генов стрессового ответа

Исследования с использованием новых биотехнологических методов могут позволить выявить, какие сигнальные пути ответственны за радиобиологический эффект у растительных организмов, выращенных из облученных семян. Одним из методов является анализ экспрессии генов. Существует ряд методов изучения экспрессии генов, включая скрининговые

высокопроизводительные методы, которые позволяют проанализировать существенную часть транскриптома образца, а также методы измерения экспрессии конкретного гена.

Все скрининговые методы очень информативны, но при этом они требуют подтверждения более чувствительными точечными методами, каким является полимеразная цепная реакция (ПЦР) [41].

Геном организма представлен множеством генов, являющихся последовательностями ДНК, кодирующими первичную структуру белков. Белковые гены кодируют мРНК, необходимую для дальнейшего синтеза белка. То, насколько активно протекает процесс образования мРНК на матрице ДНК, называется транскрипционной активностью.

Экспрессия состоит из нескольких этапов: транскрипция (синтез мРНК на ДНК-матрице), трансляция (синтез полипептидной последовательности на матрице мРНК) и посттрансляционная обработка белка. На всех этапах происходит регуляция экспрессии, однако самой важной является транскрипция. Чем активнее транскрибируется ген, тем выше уровень его экспрессии. Концентрация транскриптов (молекул мРНК синтезированных на ДНК-матрице) изучаемого гена оценивается с помощью метода ПЦР в режиме реального времени.

Метод ПЦР представляет собой ферментативную наработку *in vitro* определенных двуцепочечных участков ДНК, практически в неограниченных количествах [70]. Для оценки экспрессии генов используют модификацию метода ПЦР – ПЦР в реальном времени, сопряженную с обратной транскрипцией. В данном методе сначала проводят реакцию обратной транскрипции для синтеза комплементарной ДНК (кДНК); в данной реакции работает фермент обратная транскриптаза (РНК-зависимая ДНК-полимераза). Контроль интенсивности накопления продуктов полимеразной цепной реакции в режиме реального времени позволяет оценить уровень транскрипционной активности изучаемого гена, то есть его экспрессию. Дифференциальная экспрессия генов является аналитическим методом выявления транскрипционных изменений. Например, ранние изменения транскриптома в облученных семенах могут быть причиной стимуляции роста на более поздних стадиях онтогенеза [24].

В ответ на действия стрессовых факторов у всех живых организмов происходят процессы изменения экспрессии генов, связанных с ответом на стресс, работа которых направлена на защиту клеток и поддержку гомеостаза. При поиске генов, ответственных за ответ на ионизирующее излучение, следует учесть, что это является стрессором физической природы и спектр перспективных для исследования генов достаточно обширен. Однако в настоящее время их роль в формировании адаптивных реакций при воздействии ионизирующего излучения изучена недостаточно полно. В связи с этим из большого количества данных необходимо было выбрать гены, связанные с ответом растения на абиотические

стрессы, такие как засуха, холод, солевой стресс и др. Среди предполагаемых генов были отобраны гены, уровень экспрессии которых наиболее интересно посмотреть в ответ на облучение. Среди таких генов: HORVU2Hr1G057880 (пролил-тРНК синтетаза) и HORVU5Hr1G125450 (мембранный белок PM19L), HORVU2Hr1G040780 (хлорофилл аб-связывающий белок LHCP типа III).

Как говорилось ранее, пролин – многофункциональный метаболит, который является участником процессов, связанных с адаптацией растений к действию стрессоров, а также с развитием органов репродуктивной системы растений, переходом к цветению и созреванию пыльцы и семян [178; 156]. У высших растений пролин синтезируется двумя путями – из глутамата или орнитина. Предполагается, что стресс-индуцированный синтез пролина происходит преимущественно по глутаматному пути [105]. Ферменты (и гены, которые их кодируют), участвующие в биосинтезе пролина, такие как пирролин-5-карбоксилатсинтетаза, пирролин-5-карбоксилатредуктаза и орнитин- δ -аминотрансфераза а также катаболизме пролина, такие как пролиндегидрогеназа и пирролин-5-карбоксилатдегидрогеназа хорошо изучены [152; 105; 114]. Так же понятен и механизм усиления работы ферментов синтеза/катаболизма пролина у растений, бактерий, простейших и других организмов под действием стрессовых факторов [48]. Представлялось интересным изучить как изменяется экспрессия гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, участвующего в первом этапе биосинтеза белка, под действием ионизирующего излучения, поскольку различные типы стресса вызывают значительное снижение глобальной скорости трансляции [132]. Пролит-тРНК-синтетаза, кодируемая геном HORVU2Hr1G057880 у ячменя, является членом семейства ферментов, известных как аминоксил-тРНК-синтазы (АСРазы), функция которых заключается в присоединении определенной аминокислоты к родственной ей тРНК во время биосинтеза белка. Эти древние белки встречаются во всех современных организмах, и их возникновение, вероятно, предшествует появлению «корня» филогенетического дерева [162]. Все аминоксил-тРНК-синтазы произошли от двух предковых форм и были объединены в два класса на основе структурного сходства. Эти классы различаются по организации доменов, структуре аминокисливающего домена, а также по способам связывания и аминокислирования тРНК. Пролит-тРНК синтетаза относится ко второму классу ферментов и имеет антипараллельный β -лист в структуре своего аминокисливающего домена. Обычно ферменты второго класса представляют собой димеры, обладающие четвертичной структурой, и аминокислируют 76-й аденозин тРНК через 3'-ОН группу (за исключением фенилаланил-тРНК синтазы) [162]. Поскольку АСРазы обеспечивают соответствие нуклеотидным триплетам генетического кода (антикодону тРНК) аминокислот, встраиваемых в белок, они играют

ключевую роль в точности считывания генетической информации с мРНК во время синтеза белков на рибосомах.

В ходе длительного эволюционного процесса у растений постепенно сформировался ряд стратегий и механизмов, позволяющих справляться со стрессовыми условиями. Исследование на рисе (*Oryza sativa*) показало, что специфичные для растений белки AWRM-19-домена играют важную роль в развитии растений и стрессовых реакциях. OsPM19L1, кодирующий AWRM-19-подобный белок 1, обладал высоким уровнем экспрессии в листовой оболочке риса в ответ на стрессовые условия, спровоцированные экзогенной абсцизовой кислотой, а также солевым и холодным стрессом. Более того, в условиях стресса экспрессия OsPM19L1 была усилена у мутанта риса с дефицитом ABI5-Like1 (ABL1), abl1-фактора, позитивно регулирующего экспрессию генов элементов АБК-зависимых сигнальных путей, что позволяет предположить, что ABL1 отрицательно регулирует экспрессию гена OsPM19L1. Таким образом, OsPM19L1 тесно связан со стрессоустойчивостью через АБК-зависимый путь у *Oryza sativa* [113]. Фенотипический анализ сверхэкспрессии, РНК-интерференции и нокаутных линий показал, что OsPM1 участвует в реакциях на засуху и регуляции прорастания семян у того же вида риса [187]. PM19L участвует в сигнальных путях, связанных с абсцизовой кислотой, регулируя процессы прорастания и адаптации к стрессам.

Эти любопытные эксперименты подталкивают к изучению гомологичного гена мембранного белка PM19L в другом организме – ячмене обыкновенном. Уже получены результаты экспрессии гомологов PM19L в растениях, выращенных из гамма-облученных семян 7 сортов ячменя. Этот ген экспрессировался сильнее в побегах и корнях у сортов, которые были стимулированы гамма-облучением [28].

Белок PM19L связан с мембранами и может участвовать в транспорте ионов. Гены этого семейства могут принимать непосредственное участие в транспорте АБК и обеспечивать засухоустойчивость своей гиперэкспрессией. Барреро с соавторами [99] предположили, что белки PM19 могут играть роль в модификации свойств мембраны и, таким образом, могут влиять на реакцию на температурный стресс.

Реакция экспрессии генов, кодирующих мембранный белок PM19L, на различные стрессовые факторы, делает этот ген многообещающим для исследований механизмов как радиационной стимуляции, так и для радиационного ответа в целом [185].

Внешняя антенна ФС II состоит из мобильной антенны и минорных антенных белков. В сосудистых растениях наиболее распространенным антенным комплексом является основной LHCII. Белки LHC организованы вокруг фотосинтетических реакционных центров, образуя комплексы, встроенные в тилакоидную мембрану, и связывают около 70% пигментов,

участвующих в фотосинтезе растений [137]. К белкам мобильной антенны относят: LHCB I-III (масса около 26 кДа), к минорным белкам – LHCB IV-VI (или CP29, CP26, CP24 соответственно). LHCB III влияет на макроструктурное расположение антенны LHCP и изменяет скорости переходов состояний, что важно для адаптации растений к различным условиям освещения [189]. Кроме того, отсутствие LHCB III может привести к увеличению фосфорилирования LHCP, что указывает на его роль в регуляции этого процесса. Анализ линий с обедненными LHCB позволил определить иерархию связывания отдельных субъединиц, что LHCB III является мономерной единицей, обращенной к CP24 [139].

После проведенного гибридизационного анализа с использованием геноспецифического зонда показано, что ген, кодирующий хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCP типа III экспрессируется в проростках растений, выращенных в темноте. Однако количество копий мРНК, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCP типа III, увеличивается в условиях освещения [96].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Объект исследования

Для проведения экспериментальной работы был выбран объект – ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare* L.) трех районированных сортов: Витязь, Бадьорий и Ладны. Сорт Витязь рекомендован для возделывания в Поволжском, Центрально-Черноземном, Уральском регионах, Республиках Татарстан и Башкортостан. Сорт Бадьорий рекомендован для выращивания в Харьковской области, сорт Ладны – в Витебской области. В исследованиях использовали семена первой репродукции.

2.2 Схема эксперимента

2.2.1 Облучение семян ячменя обыкновенного

Семена облучали в бумажных конвертах с площадью поверхности 25 см^2 . В каждом конверте находилось по 30 семян, 3 пакета на каждую дозу облучения. Серии опытов повторяли 3 раза.

Облучение семян гамма-квантами проводили на базе Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии» (Калужская область, г. Обнинск), исследуемые дозы 2, 5, 10, 15, 20, 25, 50 Гр, на уникальной научной установке «Гамма-установка радиационного облучения ГУР-120» (регистрационный номер 2795259), при мощности дозы 58 Гр/ч. Источник излучения – ^{60}Co . Дозиметрический контроль осуществлялся при помощи дозиметра универсального ДКС-101 (ООО «Политехформ-М», Россия) с ионизационной камерой БМК-50 (ООО «Политехформ-М», Россия).

Облучение тяжелыми ионами ^{12}C проводили на базе ФГБУ «Институт физики высоких энергий имени А.А. Логунова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» (Московская область, г. Протвино) на каскаде ускорителя «У-70» на «простреле» со средней начальной энергией 450 МэВ/нуклон с коллиматором с квадратным отверстием

50х50 мм после линзы Q7. Исследуемые дозы: 1, 2, 4 и 6 Гр. Для достижения равномерного поля в зоне облучения использовалась электромагнитная сканирующая вобблер система. Пакетики с семенами располагались на стенке фантома с наружной стороны. Измерение равномерности поля облучения пакетиков с семенами проводили с помощью радиохромных пленок Gafchromic EBT3 (Ashland, США). Пленку EBT3 размером 100×100 мм помещали на стенку водного фантома и проводили облучение. Оцифровывали пленки EBT3 сразу после облучения с помощью планшетного сканера Epson Expression 10000 XL (Seiko Epson Corp, Япония). Требуемая доза отпускалась по автоматически рассчитанному значению мониторингового числа плоскопараллельной ионизационной камеры в зале ускорителя У-70 (ИФВЭ, г. Протвино).

Облучение протонами проводили на базе Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (Калужская область, г. Обнинск) на установке «Прометеус» на «простреле» со средней энергией 100 МэВ. Исследуемые дозы: 5, 10, 15, 20, 25, 50 Гр. Однородность дозового распределения и размер поля контролировались при помощи матричного дозиметра PTW Octavius XDR (PTW, Германия), а значения поглощенных доз устанавливались при помощи электрометра PTW Tandem XDR (PTW, Германия) и ионизационной плоскопараллельной камеры PTW Advanced Markus TM 34045 (PTW, Германия).

2.2.2 Проращивание облученных семян и общая схема эксперимента

Облученные и необлученные (контрольные) семена проращивали в рулонных культурах согласно рекомендациям Р.С. Бабаяна [10] с модификациями. На полоску полиэтиленовой пленки помещали фильтровальную бумагу шириной 15 см, предварительно размеченную с отступом в 3 см от левого и верхнего краев. Затем бумагу увлажняли дистиллированной водой и размещали семена с интервалом в 2 см, после чего накрывали листом кальки. Далее рулон скатывали справа налево, так чтобы отступ полиэтилена с левой стороны завершал процесс закручивания. Рулон помещали в химический стакан с 100 мл дистиллированной воды и ставили в термостат ТС-1/80 СПУ (ОАО «Смоленское СКТБ СПУ», Россия). Рулоны выдерживались в термостате в темноте при +23°C. На второй день прорастания для анализа цитогенетических показателей часть корешков помещали в смесь ледяной уксусной кислоты и 96%-ного этилового спирта в соотношении 1:3 на 24 часа. После этого их переносили в 70%-ный этиловый спирт и хранили в холодильнике при +4°C. Кроме того, на тот же день отбирали

часть семян, из которых извлекали зародыши, фиксировали их в жидком азоте (-196°C) и хранили в низкотемпературном морозильнике Forma995 (Thermo Scientific, США) при -80°C до экстракции РНК для исследования экспрессии выбранных генов. На 5-ые сутки прорастивания рулонные культуры помещали под фитолампу Osram Fluora L 18W/77 (Германия), световой поток – 550 лм, мощность – 18 Вт. На 7-ые сутки проводили измерение длины ростка и главного корня для всех образцов, а также отбирали часть ростков и корней, которые фиксировали в жидком азоте для дальнейшего выделения РНК. На 10-ые сутки измеряли концентрации основных фотосинтетических пигментов, содержание пролина и МДА в ростках ячменя обыкновенного.

2.2.3 Оценка биохимических показателей ячменя обыкновенного

1. Измерение пигментов фотосинтетического аппарата в ростках ячменя

Оценку интенсивности фотосинтеза определяли по содержанию хлорофилла *a*, *b* и каротиноидов в растительном материале ячменя обыкновенного фотометрическим методом [92].

Проростки отрезали и взвешивали на весах навеску массой 100 мг. Навеску помещали в керамическую ступку и растирали в течение 5-7 минут до гомогенного состояния, порционно добавляя 10 мл 100%-ного ацетона. Осадок и надосадочную жидкость количественно переносили на стеклянный фильтр, укрепленный в колбе Бунзена. Фильтрацию производили с помощью водоструйного насоса. Фильтрат собирали в мерную колбу и доводили 100%-ным ацетоном до 25 мл. Экстракт помещали в кювету фотометра КФК-3-01 (ОАО «ЗОМЗ», Россия) толщиной 1 см. В кювету с холостой пробой наливали растворитель (100%-ный ацетон). Определение концентрации хлорофиллов и каротиноидов проводили по регистрации оптической плотности (ОП) при длинах волн 470, 646 и 663 нм. Для каждой пробы проводили пять измерений. Количественное содержание хлорофилла *a* (C_a) в мг/л определяли по формуле (1):

$$C_a = 12,21 \cdot D_{663} - 2,81 \cdot D_{646} \quad (1)$$

Содержание хлорофилла *b* (C_b) в мг/л определяли по формуле (2):

$$C_b = 20,13 \cdot D_{646} - 5,03 \cdot D_{663} \quad (2)$$

Содержание каротиноидов ($C_{\text{кар}}$) в мг/л определяли по формуле (3):

$$C_{\text{кар}} = (1000 \cdot D_{470} - 3,27 \cdot C_a - 100 \cdot C_b) / 229, \quad (3)$$

где D_{470} , D_{646} и D_{663} – ОП экстракта при 470, 646 и 663 нм соответственно, C – концентрация пигмента в вытяжке (мг/л).

Установив концентрацию пигментов в вытяжке, далее определяли их содержание в растительном материале (4):

$$R_p = (V \cdot C) / N, \quad (4)$$

где R_p – содержание пигмента в растительном материале (мг/г сырой массы), V – объем вытяжки (л), C – концентрация пигмента (мг/л), N – навеска растительного материала (г).

2. Определение малонового диальдегида в тканях ячменя обыкновенного

В настоящей работе использовали метод [163], основанный на реакции между МДА и тиобарбитуровой кислотой.

300 мг свежесрезанных проростков растирали в ступке с 2 мл реакционной смеси, которая состоит из 0,25%-ного раствора тиобарбитуровой кислоты в 10%-ном растворе трихлоруксусной кислоты. Гомогенат переносили в стеклянный химический стакан, объемом 25 мл, оmyвая ступку небольшими порциями реакционной смеси. Пробы перемешивали и помещали на водяную баню (+95°C) на 30 минут. После экспозиции стаканы быстро охлаждали, помещая в сосуд с холодной водой, температура которой составляла ~ +5°C. Пробы переносили в пробирки и центрифугировали 10 мин. После чего аккуратно отбирали надосадочную жидкость и на фотометре КФК-3-01 (Россия) измеряли ОП при длине волны 532 и 600 нм против контрольного раствора, состоящего из реакционной смеси. Концентрацию МДА рассчитывали с учетом коэффициента экстинкции $155 \text{ мМ}^{-1} \text{ см}^{-1}$ по формуле (5):

$$A \text{ (мМ/г сырого веса)} = (D_{532} - D_{600}) / (155 \cdot 0,3), \quad (5)$$

где D_{532} , D_{600} – ОП экстракта при 532 и 600 нм соответственно, 155 – коэффициент экстинкции ($\text{мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$), 0,3 – навеска растительного материала (г).

3. Количественное определение содержания пролина в растительном материале ячменя обыкновенного

Содержание свободного пролина определяли фотомерически по методу Бейтса с модификациями без использования толуола [91]. Суть метода заключается в образовании окрашенного продукта взаимодействия пролина с нингидриновым реактивом.

Навеску свежесрезанной листовой пластины растения 200 мг гомогенизировали в ступке, переносили в стеклянный химический стакан и заливали 10 мл кипящей дистиллированной воды. Затем стакан погружали на водяную баню ($+100^{\circ}\text{C}$) на 10 мин. Далее в стеклянную пробирку наливали 2 мл ледяной уксусной кислоты, 2 мл нингидринового реактива и добавляли 2 мл полученного экстракта. Нингидриновый реактив готовили из 1,25 г нингидрата, 30 мл ледяной уксусной кислоты и 20 мл 6М раствора ортофосфорной кислоты. Пробы инкубировали в течение 20 мин на водяной бане ($+100^{\circ}\text{C}$), после чего резко охлаждали, помещая в сосуд с холодной водой $\sim +5^{\circ}\text{C}$). Измеряли ОП продуктов реакции на фотометре КФК-3-01 при длине волны 520 нм. Значения содержания пролина рассчитывали по формуле (6):

$$C = (E \cdot V \cdot 217,49) / (m \cdot 1000), \quad (6)$$

где C – концентрация пролина (мкмоль/г сырой массы), E – оптическая плотность при 520 нм, V – объем, до которого доводился экстракт (мл), M – масса навески (г).

2.2.4 Оценка генетических показателей ячменя обыкновенного

Для определения МИ, частоты и спектра цитогенетических нарушений использовали стандартный метод давленных препаратов с окрашиванием ацетокармином [61]. Препараты просматривали под световым микроскопом «Микмед-5» при 400- и 1000-кратном увеличении. В настоящей работе учитывали общее количество клеток, количество клеток в каждой фазе митоза, также учитывали цитогенетические нарушения на стадиях ана- и телофазы [8].

Митотический индекс (МИ) рассчитывали по формуле (7):

$$MI = (P+M+A+T)/N*100\%, \quad (7)$$

где P – количество клеток в профазе, M – количество клеток в метафазе, A – количество клеток в анафазе, T – количество клеток в телофазе, N – общее количество просмотренных клеток.

Частоту цитогенетических нарушений (ЧЦН) рассчитывали по формуле (8):

$$ЧЦН = ЦН/(A+T)*100\%, \quad (8)$$

где ЦН – количество клеток с нарушениями, A – количество клеток в анафазе, T – количество клеток в телофазе.

Расчет спектра цитогенетических нарушений (K) был осуществлен по формуле (9):

$$K = N_{ЦН} / N_K, \quad (9)$$

где $N_{ЦН}$ – число цитогенетических нарушений определенного типа, а N_K – число просмотренных клеток.

Для определения экспрессии генов фиксированные зародыши, ростки и корни гомогенизировали и выделяли РНК при помощи реагента для выделения суммарной РНК ExtractRNA (Евроген, Россия) согласно протоколу производителя. Концентрации РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 UV-Vis (Thermo Scientific, США). Синтез кДНК на матрице РНК, амплификацию и детекцию проводили в одной пробирке при помощи набора реагентов для одноэтапного анализа транскриптов РНК OneTube RT-PCR SYBR (Евроген, Россия). Уровень транскрипционной активности генов определяли с помощью ПЦР-РВ на амплификаторе QuantStudio 5 (Thermo Scientific, США). В качестве референтного выбрали ген 18SrRNA, который кодирует 18S субъединицу рРНК. Праймеры были разработаны с использованием программного обеспечения Primer BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). В качестве праймеров применяли следующие последовательности:

Референтный ген 18SrRNA:

- Праймер F – GTGACGGGTGACGGAGAATT
- Праймер R – GACACTAATGCGCCCGGTAT

Исследуемый ген HORVU2Hr1G057880 (пролил-тРНК синтаза):

- Праймер F – TACAGCTCATGCCACCCTTG

- Праймер R – TCCGATCAGCACCAGCAAAT

Исследуемый ген HORVU5Hr1G125450 (мембранный белок PM19L):

- Праймер F – GCGTTCGGGATGTACGAGAT
- Праймер R – GAACTCGTCTGAAGCTGAGCA

Исследуемый ген HORVU2Hr1G040780 (хлорофилл ab-связывающий белок LHCP типа III):

- Праймер F – CCGACGACCCTGTTACCTTC
- Праймер R – TGCACGAAGAACCCGAACAT

Для расчета относительного уровня транскрипционной активности целевых генов использовали метод $2^{-\Delta Ct}$. Пороговую линию выставляли автоматически с помощью специализированного программного обеспечения амплификатора QuantStudio 5 (Thermo Scientific, США). Для каждого образца определяли значения порога цикла (Ct) для целевого гена и референтного гена. ΔCt определяли по формуле (10):

$$\Delta Ct = Ct_{\text{исследуемого гена}} - Ct_{\text{референтного гена}} \quad (10)$$

2.3 Статистическая обработка полученных данных

Оценки средних и доверительных интервалов проводили стандартными методами математической статистики. Гипотезу о нормальном распределении проверяли с использованием критерия Шапиро-Уилка. В ходе статистической обработки использовали параметрический критерий Стьюдента и непараметрический расширенный критерий Манна-Уитни, когда длина вариационного ряда не превышала трех значений в каждой повторности. Наблюдаемые различия считали статистически значимы при уровне значимости $p < 0,05$. Полученные экспериментальные данные проверяли на наличие выбросов, которые исключали из дальнейшего анализа. На диаграммах представлены средние значения $\pm$ стандартные ошибки.

Вычисления проводили с использованием методов математической статистики и компьютерного пакета программ Microsoft Office Excel 2019. Графические изображения созданы в программе SigmaPlot 11.0.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Влияние ионизирующего излучения на морфологические показатели ячменя

В ходе экспериментальных исследований были выявлены статистически значимые различия в длине ростков и главного корня (рис. 1, 2 соответственно), появившихся при прорастании облученных семян ячменя трех сортов на 7-ые сутки после гамма-облучения.

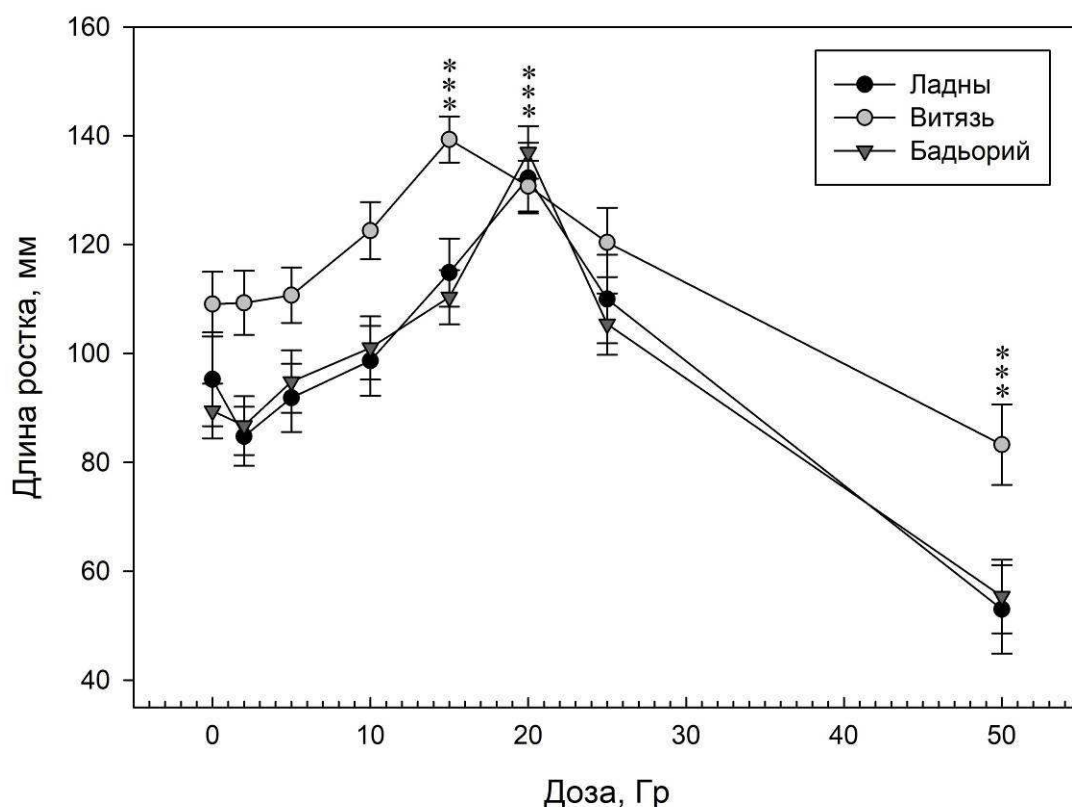


Рисунок 1 – Зависимость длины ростка облученных семян от дозы гамма-облучения на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Из рис. 1 видно, что при всех исследуемых дозах гамма-облучения, за исключением дозы 50 Гр, длина ростков либо остаются на уровне контроля, либо при действии гамма-излучения в дозе 15 и 20 Гр статистически значимо превышает контрольные значения. Воздействие гамма-квантов в дозе 50 Гр значимо снижает длину ростков, что свидетельствуют о «большом количестве возникших повреждений меристематических клеток зародыша и отражается на способности растений к росту» [8].

На рис. 2 показана зависимость длины главного корня от дозы облучения гамма-квантами.

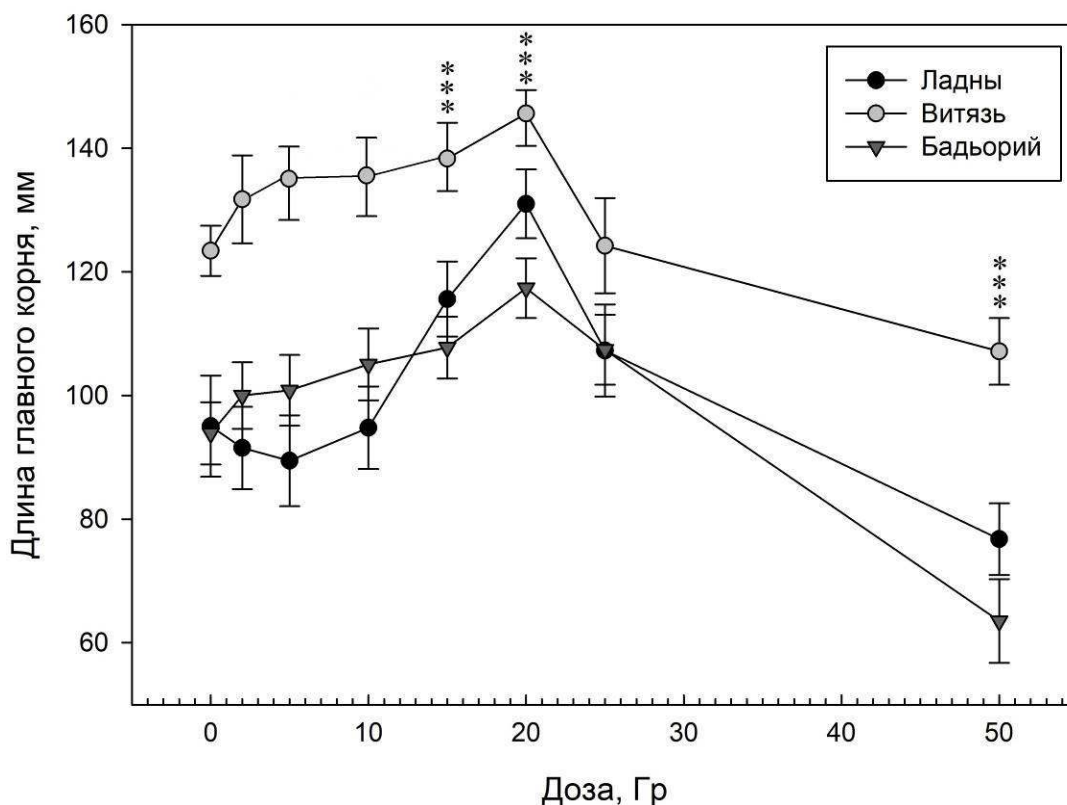


Рисунок 2 – Зависимость длины главного корня облученных семян от дозы гамма-облучения на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Можно отметить, что динамика изменения длины корней аналогична изменениям длины ростка. Как и в предыдущем случае, гамма-облучение в дозе 50 Гр влияет на развитие корней негативно [8]. Полученные данные согласуются с данными других исследований, показавших наличие данного эффекта при облучении злаковых культур гамма-излучением [67; 89; 141; 123; 158]. Возможным объяснением стимуляции ростовых процессов являются изменения в экспрессии генов, которые связаны с фитогормонами (жасмонатом и сигнализацией АБК), АС, белками позднего эмбриогенеза, компонентами клеточной стенки [123].

Результаты изменения длины ростка от дозы облучения протонами представлены на рис. 3. Отмечено уменьшение длины ростка у ячменя трех сортов в исследуемом диапазоне доз, начиная с дозы облучения протонами 15 Гр.

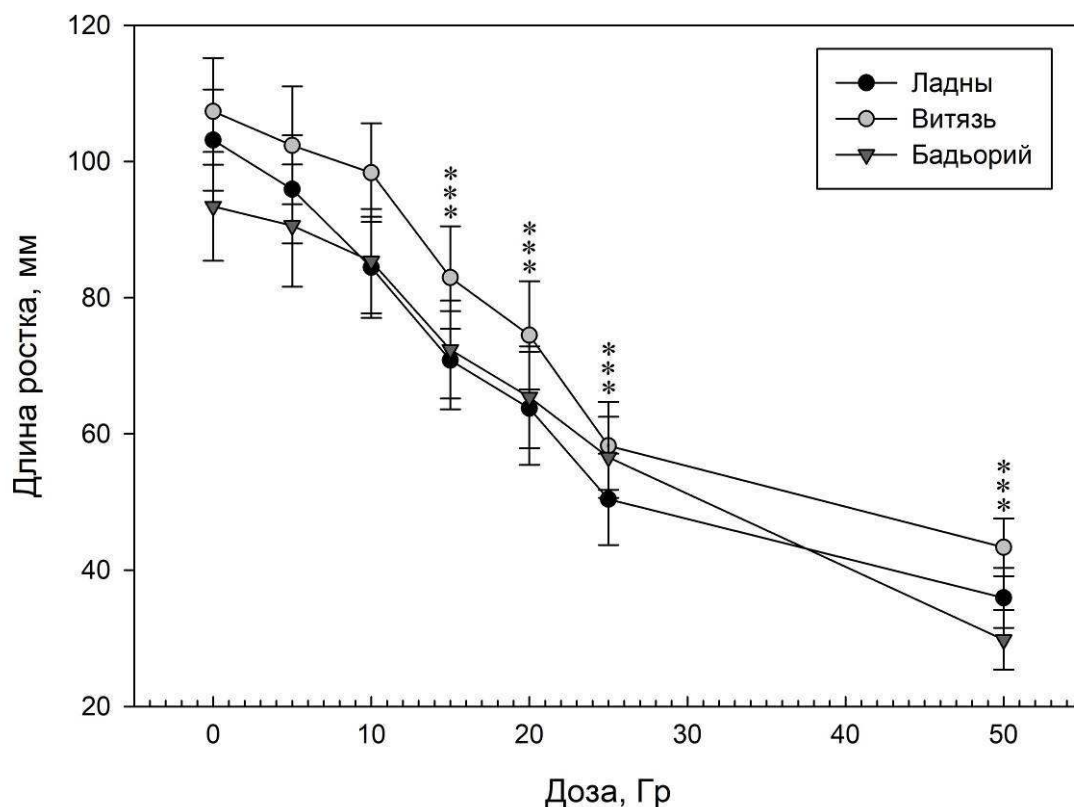


Рисунок 3 – Зависимость длины ростка облученных семян от дозы облучения протонами на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

По результатам измерений, длина главного корня проростков, которые выросли из облученных семян, статистически значимо уменьшалась при действии протонного облучения начиная с дозы 10 Гр у сортов Витязь и Ладны, и с 15 Гр у сорта Бадьорий (рис. 4). Дозозависимое снижение морфологических показателей, наиболее вероятно, связано с прямым действием протонного излучения, которое выражается в повреждении клеточных структур-мишеней.

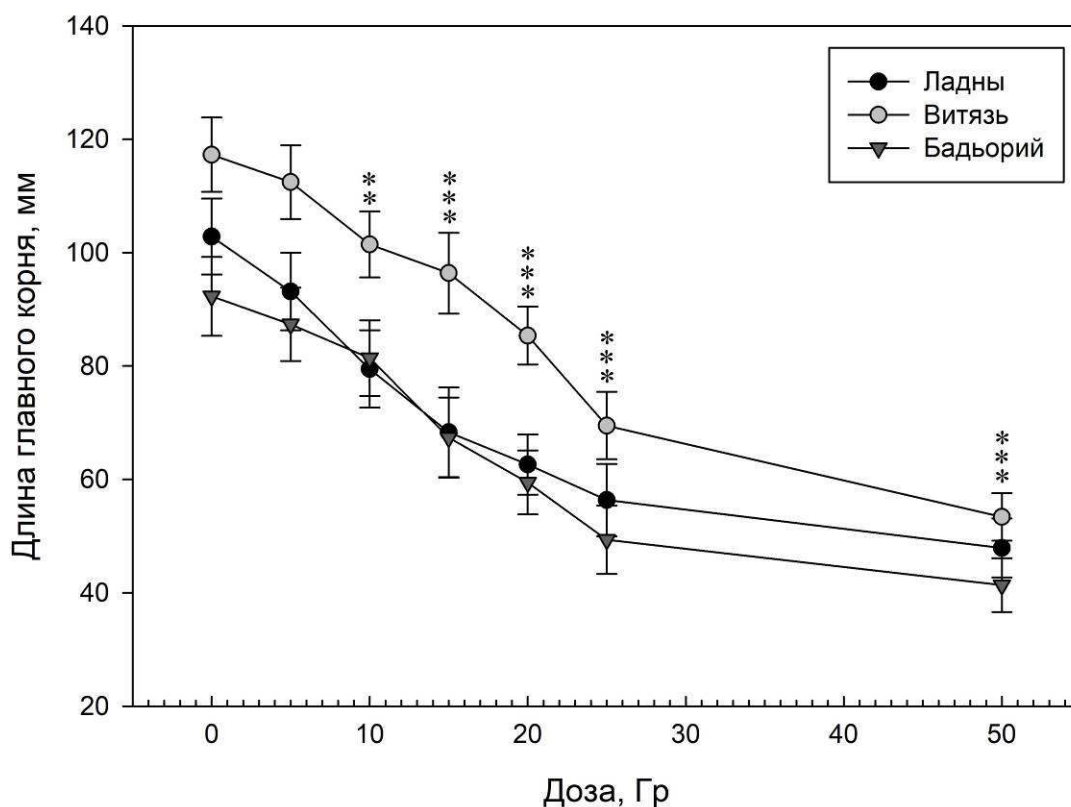


Рисунок 4 – Зависимость длины главного корня облученных семян от дозы облучения протонами на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

На рис. 5, 6 показано изменение длины ростка и главного корня соответственно у проростков ячменя, выросших из облученных ионами ^{12}C семян. Проведенное исследование влияния облучения тяжелыми ионами ^{12}C на длину ростка и главного корня не выявило достоверных отличий от контроля в опытных группах (рис. 5, 6 соответственно).

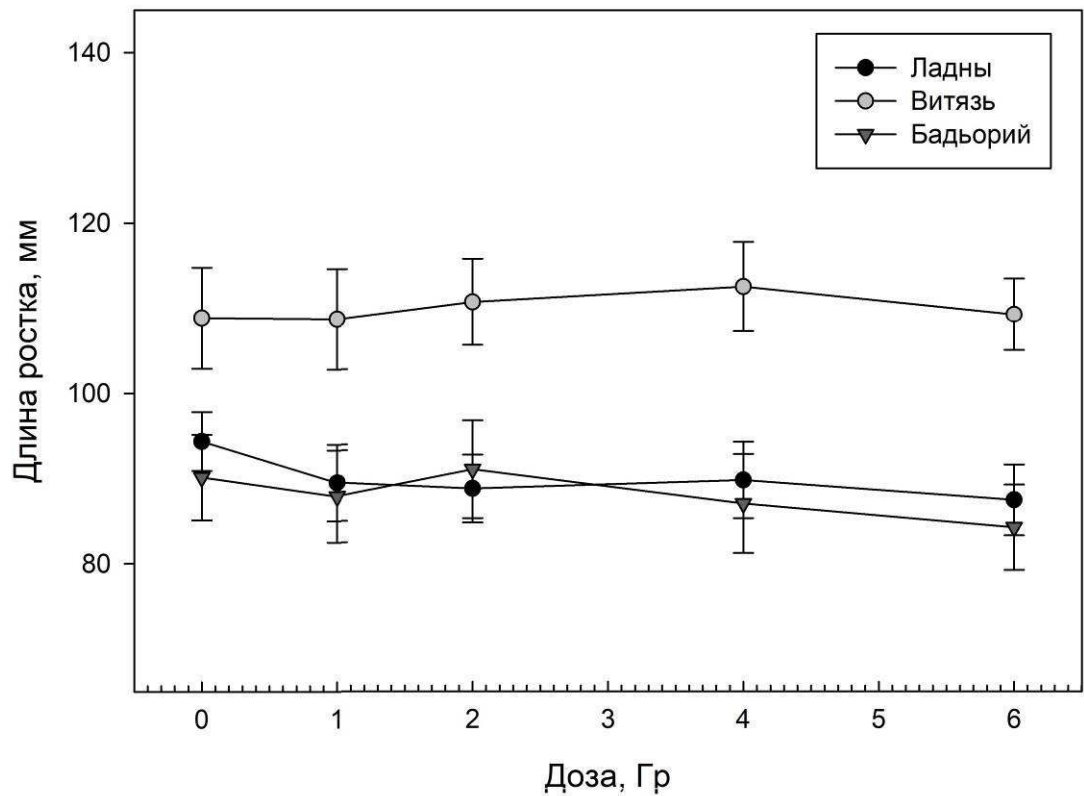


Рисунок 5 – Зависимость длины ростка облученных семян от дозы облучения ионами ^{12}C на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

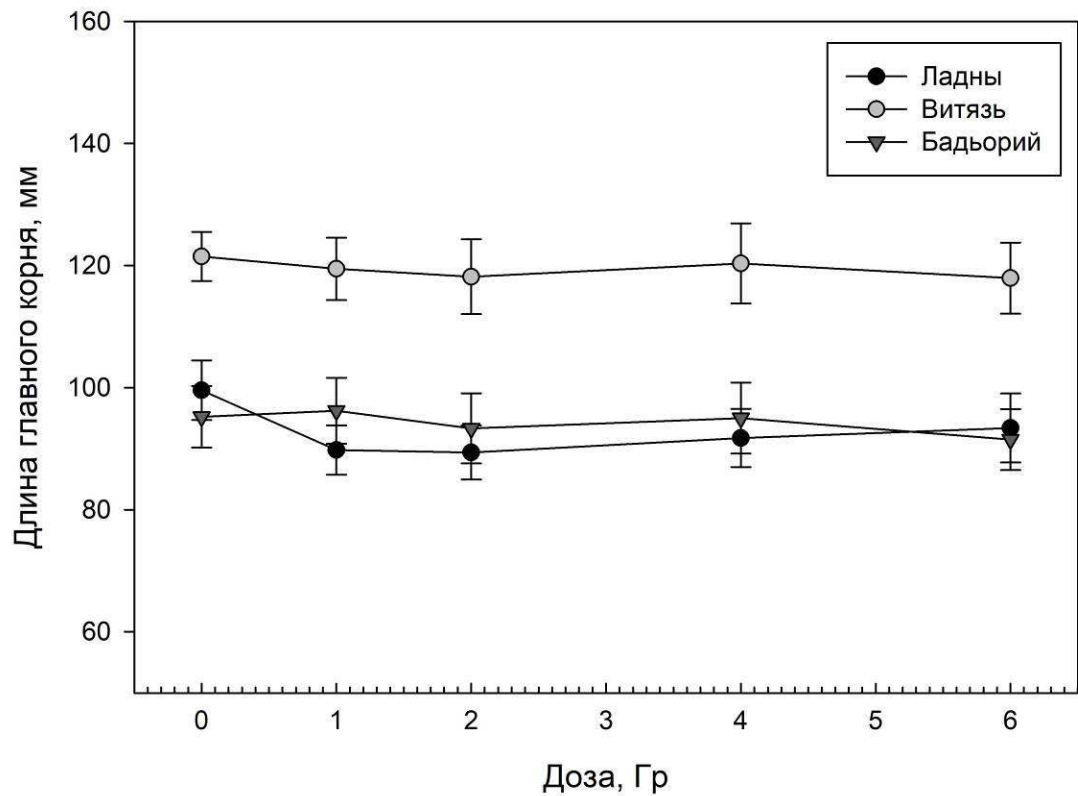


Рисунок 6 – Зависимость длины главного корня облученных семян от дозы облучения ионами ^{12}C на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Известно, что параметры корней (длина и вес) обычно показывают более сильную реакцию на те же дозы ионизирующего излучения, чем аналогичные параметры побегов [18; 188]. Более высокая устойчивость побега к ионизирующему излучению может быть объяснена тем, что эти части имеют более мощную антиоксидантную систему, предназначенную для защиты зеленых тканей растения от АФК, образующихся в процессе фотосинтеза [124]. Можно предположить, что чувствительность отдельных частей растений возникает по причине нарушений дальнего транспорта и сигналов, а также донорно-акцепторных взаимодействий [109].

Возможное объяснение полученных эффектов связано с выборочной экспрессией генов в разных органах растений, отвечающих за метаболизм абсцизовой кислоты и выработку пероксидазы. В исследовании [14] показано, что γ -облучение семян ячменя сорта Нур в дозе 50 Гр вызывало накопление абсцизовой кислоты в проростках на ранних этапах онтогенеза. В работе [185] авторы выдвигают гипотезу о молекулярных механизмах увеличения биомассы корней ячменя, за счет регулирования окислительно-восстановительного метаболизма и активации антиоксидантной системы. Замедление роста под влиянием облучения может быть также связано с задержкой или остановкой клеточного цикла в фазе G2/M и/или различным повреждением во всем геноме [169]. Нарушение биохимических и физиологических процессов, могут вызывать торможение роста и развития растений [174], поэтому для описания детальных механизмов радиационно-индуцированных эффектов необходимо рассматривать не только организменный уровень организации, но и клеточный, молекулярный уровни.

Таким образом, при исследовании влияния редко- и плотноионизирующего излучения на морфологические показатели ячменя обыкновенного выявлено, что гамма-облучение в дозах 15 и 20 Гр статистически значимо повышают длину ростка и главного корня у трех сортов ячменя. Гамма-облучение в дозе 50 Гр снижает длину проростка и главного корня. Облучение протонами в дозе 15 Гр и выше снижает длину ростка, облучение протонами в дозах 10 Гр и выше снижает длину главного корня у сортов Витязь и Ладны, у сорта Бадьорий – после облучения в дозах 15 Гр и выше. Облучение ионами ^{12}C в диапазоне доз 1-6 Гр не привело к изменению морфологических показателей у ячменя обыкновенного трех сортов.

3.2 Влияние ионизирующего излучения на биохимические показатели проростков

3.2.1 Влияния ионизирующего излучения на фотосинтетические пигменты в проростках ячменя обыкновенного

Реакцией растений на действие стрессового фактора является изменение количественного соотношения соединений, вовлеченных в работу фотосинтетического аппарата клеток. Безусловно, фотосинтез является одним из наиболее важных физиологических процессов автотрофов, поэтому нарушение этого процесса влечет за собой угнетение организма в целом. Особый интерес представляет динамика изменения профиля основных фотосинтетических пигментов – компонентов фотосинтетических структур (ФС I и II и ССК) – хлорофилла а, хлорофилла b и каротиноидов под действием ионизирующего излучения [6].

На рис. 7 представлены результаты влияния гамма-облучения на содержание хлорофилла а в проростках ячменя обыкновенного трех сортов.

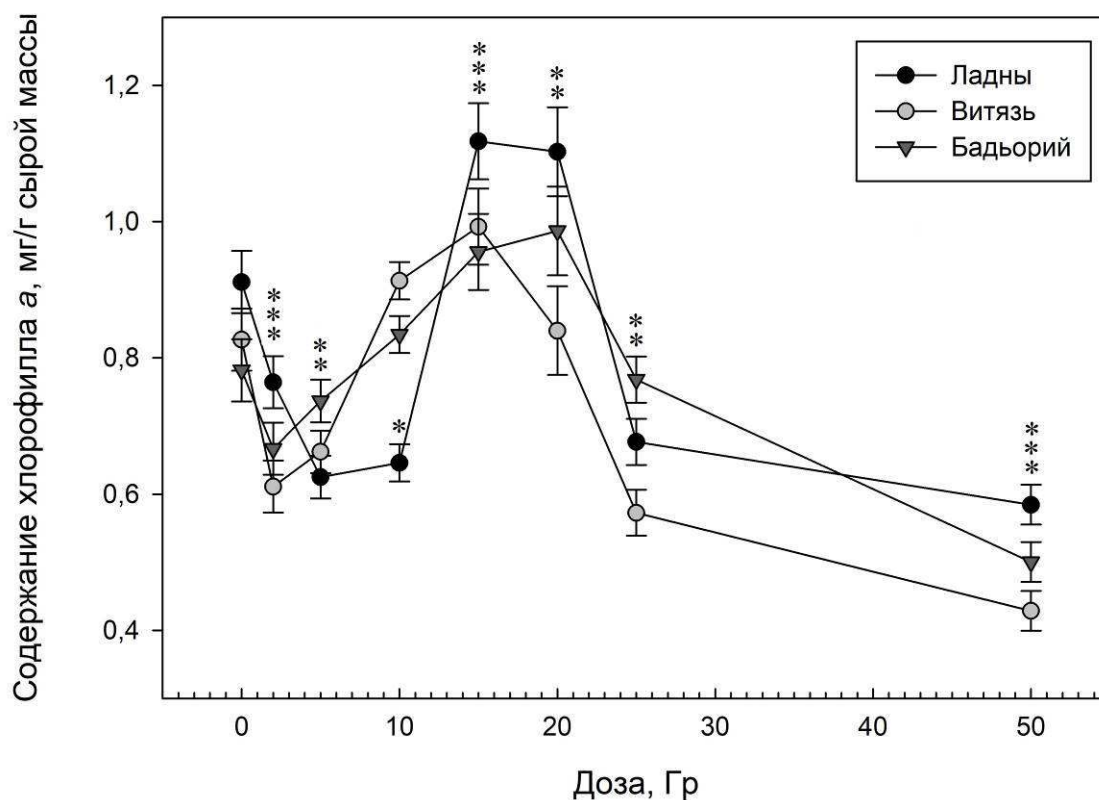


Рисунок 7 – Зависимость содержания хлорофилла а (мг/г сырой массы) от дозы гамма-излучения на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Выявлено, что содержание хлорофилла а у пророщенных семян *Hordeum vulgare* L. сорта Ладны снижается при облучении в дозах 2, 5, 10, 25 и 50 Гр [6**Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. У проростков ячменя сорта Витязь содержание хлорофилла а статистически значимо снижается при облучении гамма-квантами в дозах 2, 5, 25 и 50 Гр. Содержание хлорофилла а в ростках ячменя сорта Бадьорий снижается при действии гамма-излучения в дозах 2 и 50 Гр. Доза гамма-облучения 15 Гр повышает уровень хлорофилла а в проростках ячменя трех сортов, а доза 20 Гр – у сортов Ладны и Бадьорий (рис. 7).

Под влиянием стресса различной природы происходит увеличение содержания вспомогательных пигментов, обеспечивающих фотозащитные механизмы растений. Угнетающее действие гамма-квантов на процесс фотосинтеза проявляется в виде изменения уровней хлорофилла b и каротиноидов, необходимых для утилизации появляющегося избытка энергии в системе. На рис. 8 представлены данные по влиянию гамма-излучения на содержание хлорофилла b в проростках ячменя обыкновенного на 10-ые сутки проращивания.

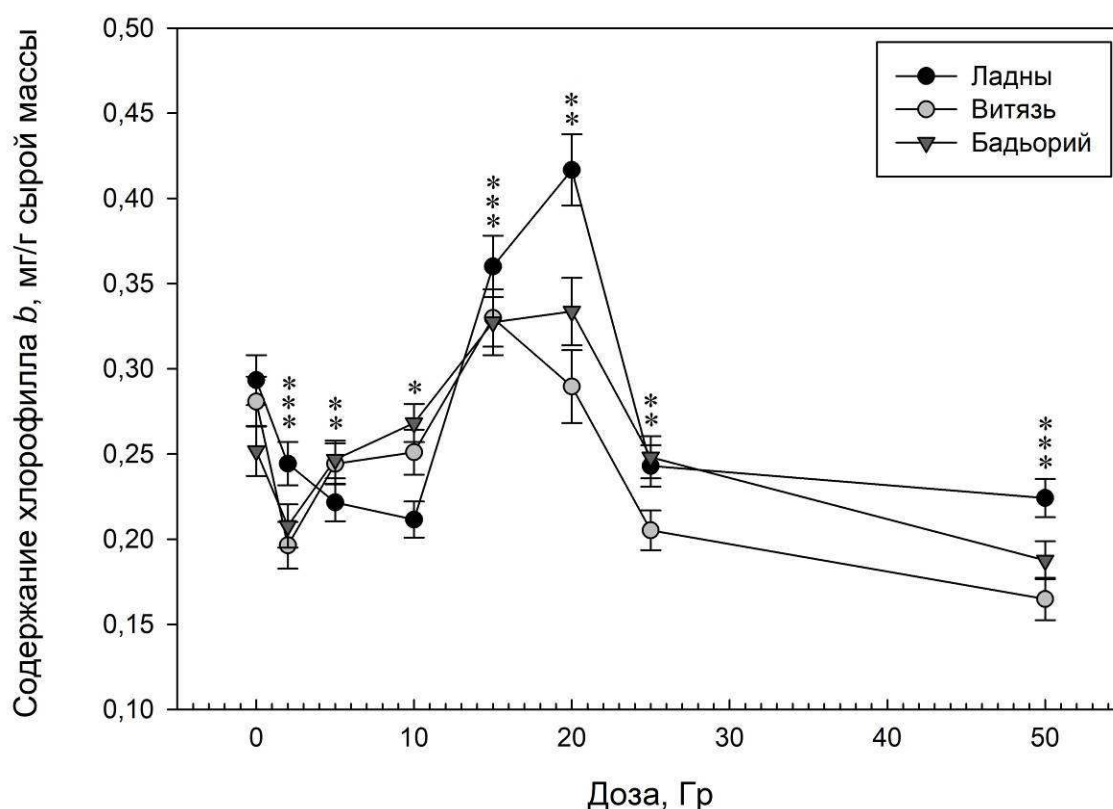


Рисунок 8 – Зависимость содержания хлорофилла b (мг/г сырой массы) от дозы гамма-излучения на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

В настоящем исследовании по влиянию гамма-облучения на содержание хлорофилла b в проростках ячменя трех сортов отмечаются аналогичные результаты, что и по содержанию хлорофилла а. Доза гамма-облучения 15 Гр является стимулирующей для трех сортов ячменя, а доза 20 Гр приводит к повышению этого показателя у сортов Ладны и Бадьорий (рис. 8), что

соотносится с нашими данными по динамике изменения морфометрических показателей проростков ячменя, выросших из семян, облученных гамма-квантами.

Каротиноиды поглощают определенные участки солнечного спектра и передают энергию этих лучей на молекулы хлорофилла, способствуя тем самым использованию лучей, которые самим хлорофиллом не поглощаются. Изопреноиды (к которым относят каротиноиды) выполняют защитную функцию, так как обладают способностью нейтрализовывать возбужденные состояния хлорофилла и, тем самым, замедлять развитие окислительного стресса [77]. На рис. 9 представлены результаты влияния гамма-облучения на содержание каротиноидов в проростках ячменя обыкновенного трех сортов.

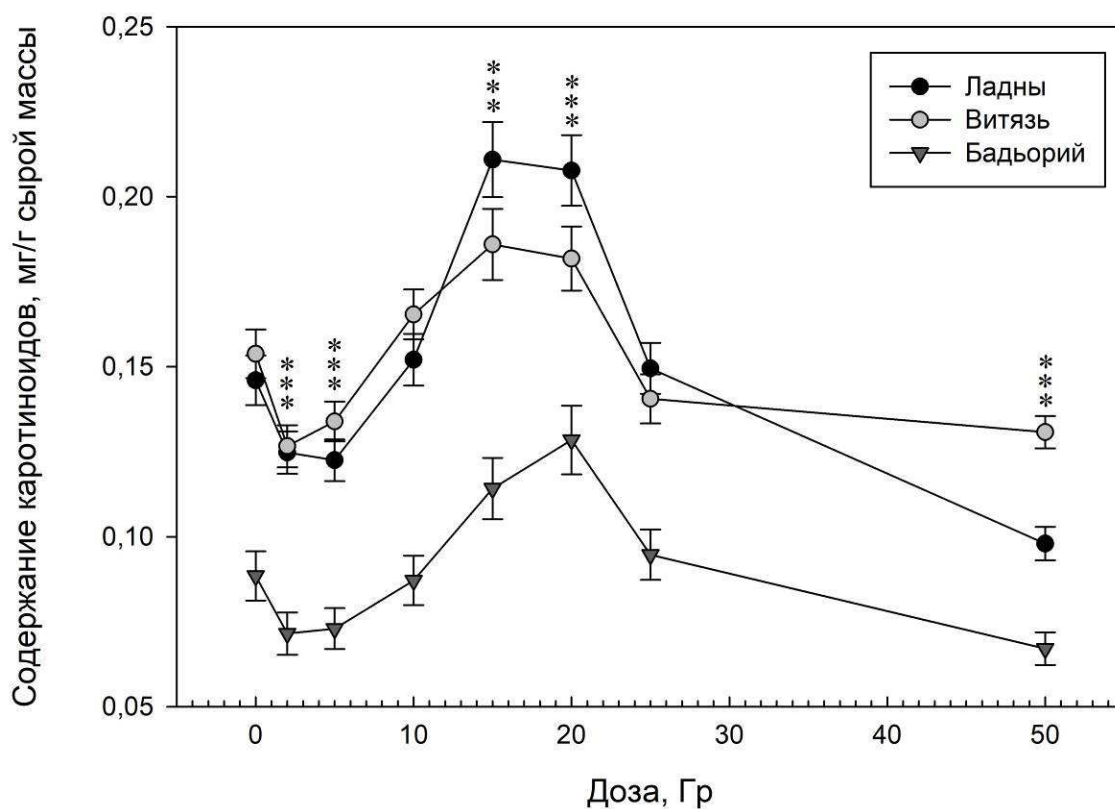


Рисунок 9 – Зависимость содержания каротиноидов (мг/г сырой массы) от дозы гамма-излучения на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

У пророщенных семян ячменя наблюдаются схожие результаты воздействия гамма-облучения на концентрацию каротиноидов, как и по содержанию хлорофиллов а и в. Облучение в дозах 2, 5 и 50 Гр приводило к снижению концентрации каротиноидов, а облучение гамма-квантами в дозах 15 и 20 Гр увеличивало содержание рассматриваемого пигмента в побегах ячменя обыкновенного трех сортов (рис. 9).

Как известно, окислительный стресс, вызванный образованием АФК, ограничивает синтез и накопление фотосинтетических пигментов. Благоприятные реакции зависят от тонкой

настройки уровней H_2O_2 , взаимодействия между сигнальными путями АФК и фитогормонов. Совместная активация антиоксидантной системы и фитогормональных сигналов приводит к изменениям метаболизма, что способствует стимуляции роста и проявлению других положительных реакций на стресс [195]. Снижение фотосинтетических пигментов после облучения гамма-квантами в дозах 2-10 Гр говорит об увеличении количества свободных радикалов, представляя собой важный фактор фенотипической адаптации [38]. Воздействие гамма-квантов в дозах 15-20 Гр вызывает стимулирующий эффект, однако, он не всегда повторяется, и его природа объясняется по-разному. Предполагается, что происходит повышение активности пентозофосфатного пути окисления глюкозы, а в результате изменений окислительно-восстановительного гомеостаза хлоропластов происходит увеличение уровней хлорофиллов и каротиноидов, которые защищают структуры клеток от повреждающего действия свободных радикалов [23]. Гамма-облучение в дозах 25-50 Гр может вызывать повреждения клеточных структур и нарушать метаболические процессы, что приводит к снижению синтеза фотосинтетических пигментов.

Результаты исследования влияния облучения протонами на хлорофилл а, хлорофилл b и каротиноиды представлены на рис. 10, 11, 12 соответственно.

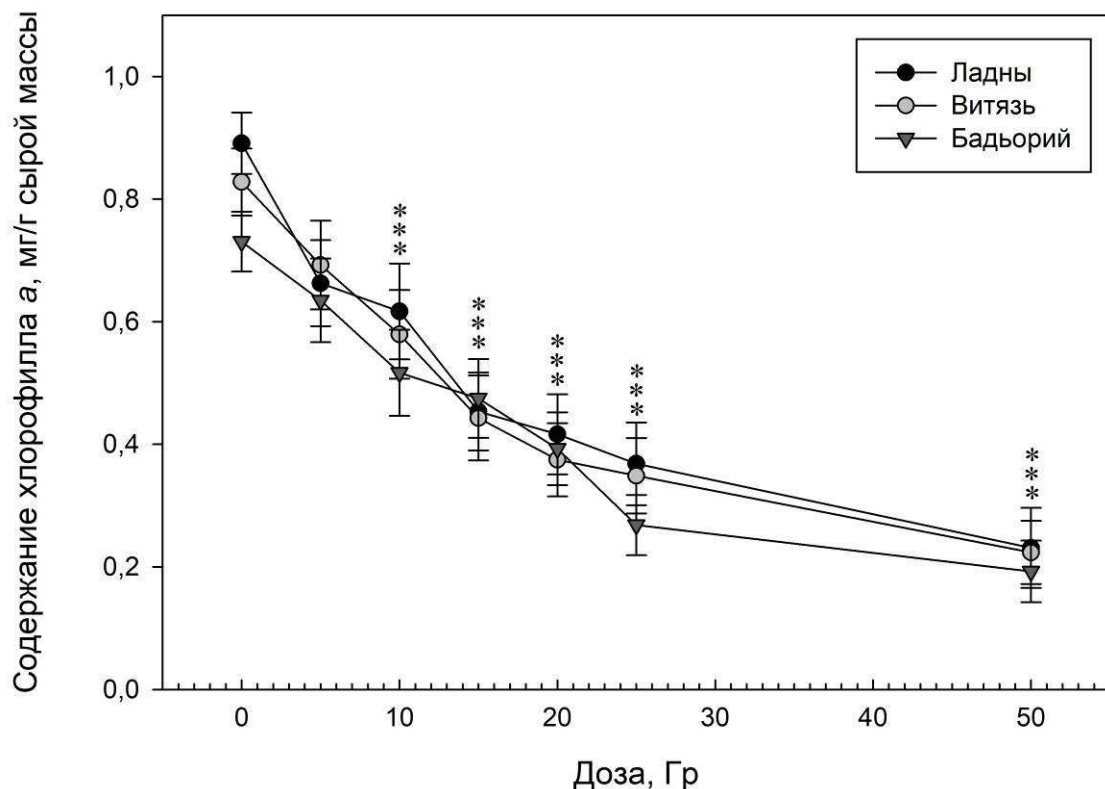


Рисунок 10 – Зависимость содержания хлорофилла а (мг/г сырой массы) от дозы облучения протонами на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

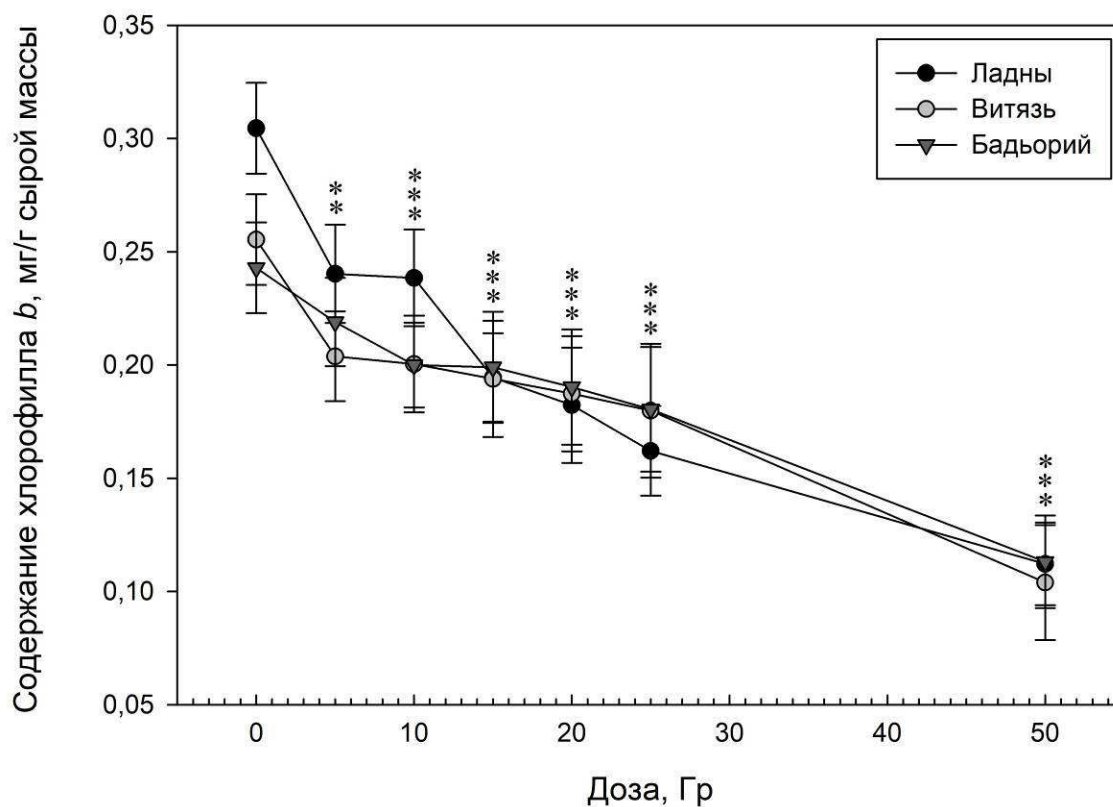


Рисунок 11 – Зависимость содержания хлорофилла *b* (мг/г сырой массы) от дозы облучения протонами на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

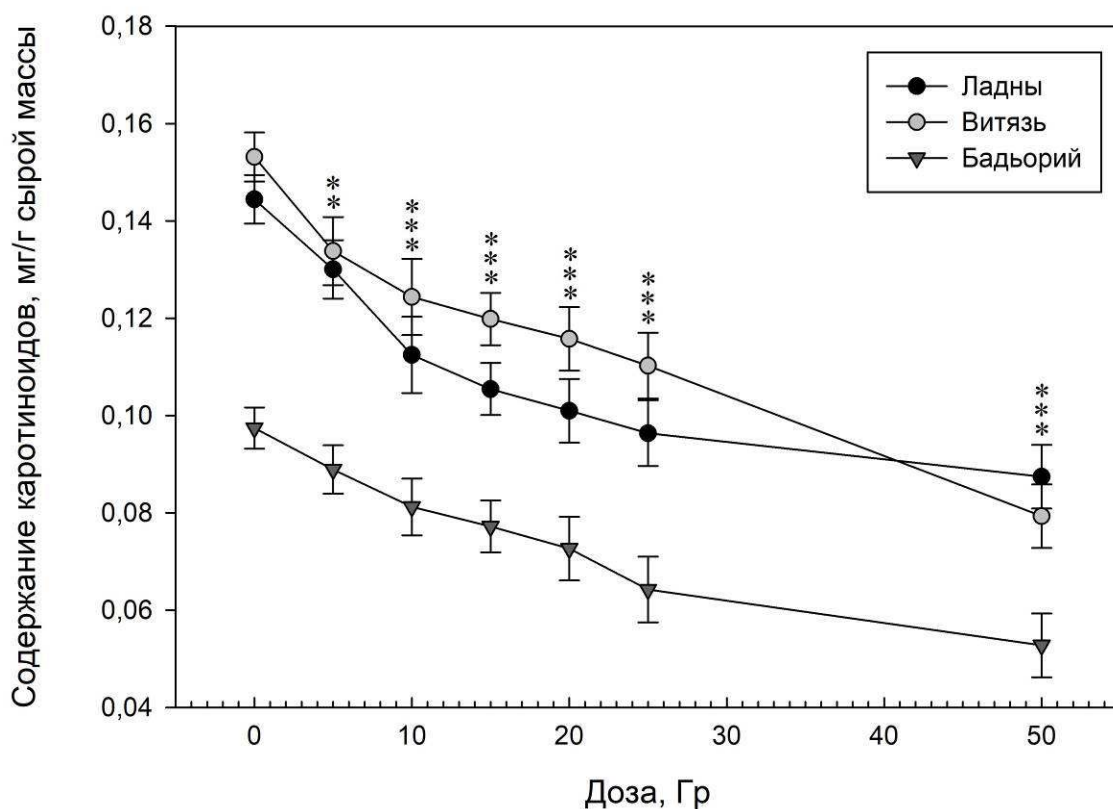


Рисунок 12 – Зависимость содержания каротиноидов (мг/г сырой массы) от дозы облучения протонами на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Установлено, что в отличие от результатов, полученных при анализе содержания пигментов в проростках ячменя, выращенных из облученных гамма-квантами семян, у проростков всех трех исследуемых сортов, полученных из семян, подвергнутых протонному излучению, наблюдается дозозависимая динамика изменения пигментного состава. Так, концентрация хлорофилла *a* в побегах ячменя трех сортов снижается при облучении в дозах 10 Гр и выше (рис. 10). Содержание хлорофилла *b* и каротиноидов в ростках ячменя статистически значимо снижается при всех дозах облучения протонами, за исключением дозы 5 Гр для сорта Бадьорий (рис. 11, 12). Максимальное снижение уровня фотосинтетических пигментов по сравнению с контрольными значениями наблюдается при дозе облучения протонами 50 Гр.

Колоссальные отличия в эффектах гамма-облучения и облучения протонами заключаются в качественном различии двух типов ионизирующего излучения. В случае редкоионизирующего излучения, действие которого главным образом обусловлено образованием АФК, имеет место стимулирующий эффект. Как говорилось ранее, тонкая настройка сигнальных молекул, которыми являются АФК, определяет эффект стимуляции. Плотнойонизирующее излучение тоже может образовывать АФК, однако, повреждение происходит за счет прямого действия радиации на клеточные структуры-мишени.

Анализ полученных данных по влиянию облучения тяжелыми ионами ^{12}C на фотосинтетические пигменты показал, что при всех изученных дозах облучения наблюдается снижение концентраций хлорофиллов *a* и *b* в ростках ячменя трех сортов (рис. 13, 14, 15).

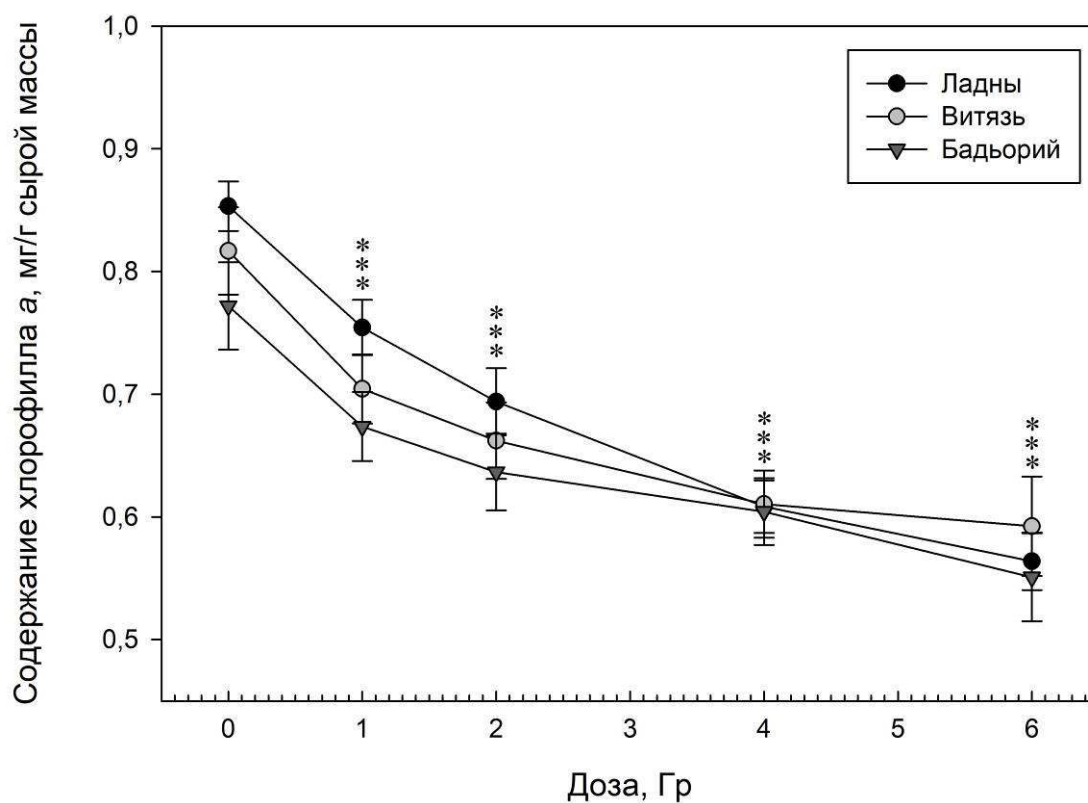


Рисунок 13 – Зависимость содержания хлорофилла а (мг/г сырой массы) от дозы облучения ионами ^{12}C на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

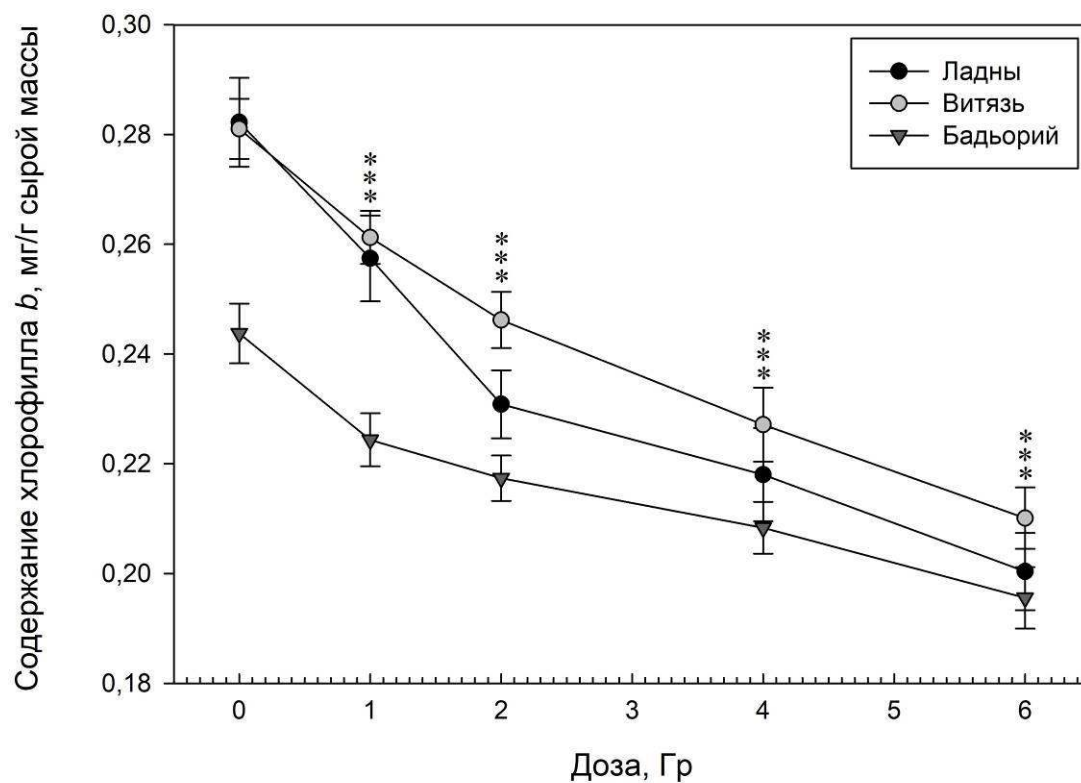


Рисунок 14 – Зависимость содержания хлорофилла b (мг/г сырой массы) от дозы облучения ионами ^{12}C на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

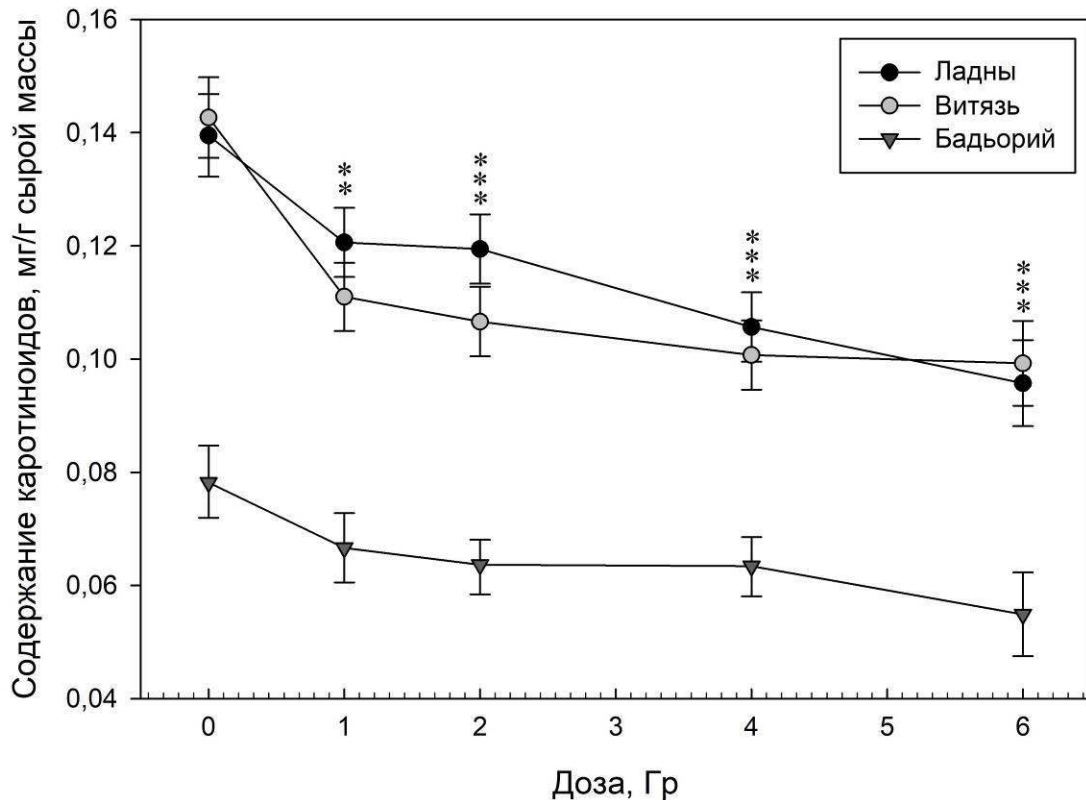


Рисунок 15 – Зависимость содержания каротиноидов (мг/г сырой массы) от дозы облучения ионами ^{12}C на 10 суток проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Максимальное снижение концентраций хлорофиллов *a* и *b* по сравнению с контрольной группой, отмечается при дозе облучения ионами ^{12}C 6 Гр (рис. 13, 14). По результатам экспериментов, выявлено, что содержание каротиноидов также снижается при облучении ионами ^{12}C во всем исследуемом диапазоне доз, за исключением облучения в дозе 1 Гр семян ячменя сорта Бадьорий (рис. 15). Действие плотноионизирующего излучения зависит от его энергии. Анализируя эффекты, полученные после воздействия протонами и ионами углерода, последние, вызывают крупномасштабные повреждения в клетках, что отражается в снижении концентрации фотосинтетических пигментов.

Несомненно, фотосинтетический аппарат растений является одной из наиболее чувствительных и уязвимых клеточных систем при воздействии абиотических стрессовых факторов [5]. Степень прямого повреждения ДНК и правильное функционирование систем репарации ДНК определяют последствия облучения на растения [195]. Сравнивая биологическое действие редко- и плотноионизирующего излучения на фотосинтетические пигменты, можно прийти к выводу, что гамма-излучение, обладая низкой плотностью ионизации и вызывая ответ посредством свободных радикалов, вносит вклад в изменение концентраций АФК. Как говорилось ранее, АФК являются сигнальными молекулами, и их

баланс играет важнейшую роль в проявлении положительных радиобиологических эффектов. Стимулирующее действие гамма-излучения на фотосинтетические пигменты исследователи объясняют по-разному: через повышение деления клеток и ферментативной активности во время прорастания семян, что улучшает поглощение воды и минералов растением [154]; через изменение уровней транскрипционной активности генов, связанных с фотосинтетическим аппаратом, окислительным стрессом, синтезом аденозинтрифосфата (АТФ), биосинтезом флавоноидов и модификацией клеточной стенки [151]; через усиление окисления фенольных соединений [146].

Плотнойонизирующее излучение, обладая выраженным прямым механизмом действия, вызывает более серьезные повреждения клеток. Снижение содержания пигментов после действия плотнойонизирующего излучения связывают с их разрушением (высвобождением хлорофилла из его белкового комплекса с последующей дефитолизацией и, возможно, феофитинизацией) с сопутствующей потерей фотосинтетической способности [140; 167]. Под действием ионизирующего излучения усиливается распад белковых комплексов, растяжение тилакоидных мембран и потеря гран в хлоропластах, что приводит к уменьшению концентрации фотосинтезирующих пигментов и сдвигу в обмене веществе в целом [7; 23; 102].

3.2.2 Содержание пролина в растительном материале после действия ионизирующего излучения

В исследовании влияния гамма-излучения на содержание пролина в проростках ячменя обыкновенного трех сортов показано, что при всех изученных дозах гамма-облучения содержание свободного пролина статистически значимо выше контрольных значений, исключением является гамма-облучение в дозе 15 и 20 Гр (рис. 16).

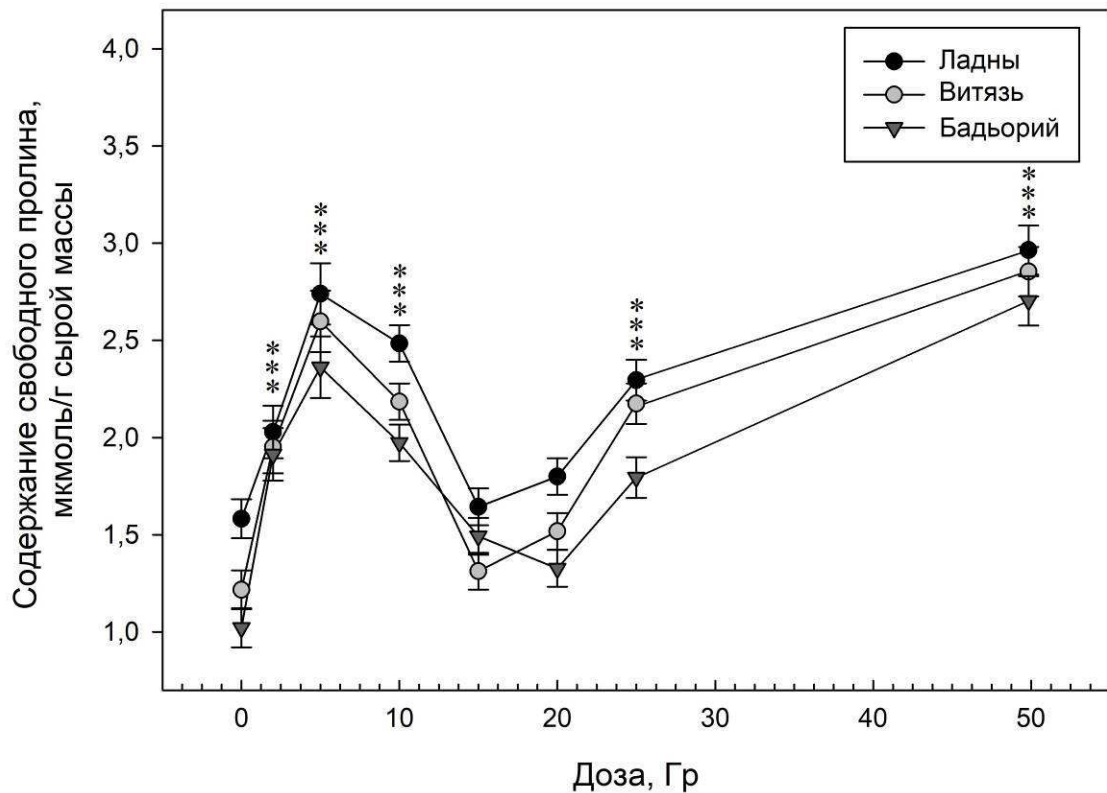


Рисунок 16 – Зависимость содержания свободного пролина (мкмоль/г сырой массы) от дозы гамма-облучения на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Пролин играет полезную роль в растениях, подвергающихся различным стрессовым условиям [7]. Помимо действия в качестве превосходного осмолита, пролин играет три основные роли во время стресса, а именно как хелатор металлов, молекула антиоксидантной защиты и сигнальная молекула. Обзор литературы показывает, что стрессовая среда приводит к перепроизводству пролина в растениях, что в свою очередь придает стрессоустойчивость, поддерживая осмотический баланс и стабилизируя мембраны, тем самым предотвращая утечку электролитов, а также приводя концентрации АФК в пределы нормы. Дозы гамма-облучения 15 и 20 Гр, вызывающие стимулирующее действие по морфологическим показателям и концентрациям фотосинтетических пигментов, не повышают концентрации свободного пролина, что может говорить о стабилизации метаболизма растений.

Дозозависимое увеличение концентрации свободного пролина в ростках ячменя обыкновенного сортов Витязь и Ладны после облучения протонами начинается с дозы облучения 5 Гр. У сорта Бадьорий повышение содержания свободного пролина начинается с дозы облучения протонами 10 Гр (рис. 17).

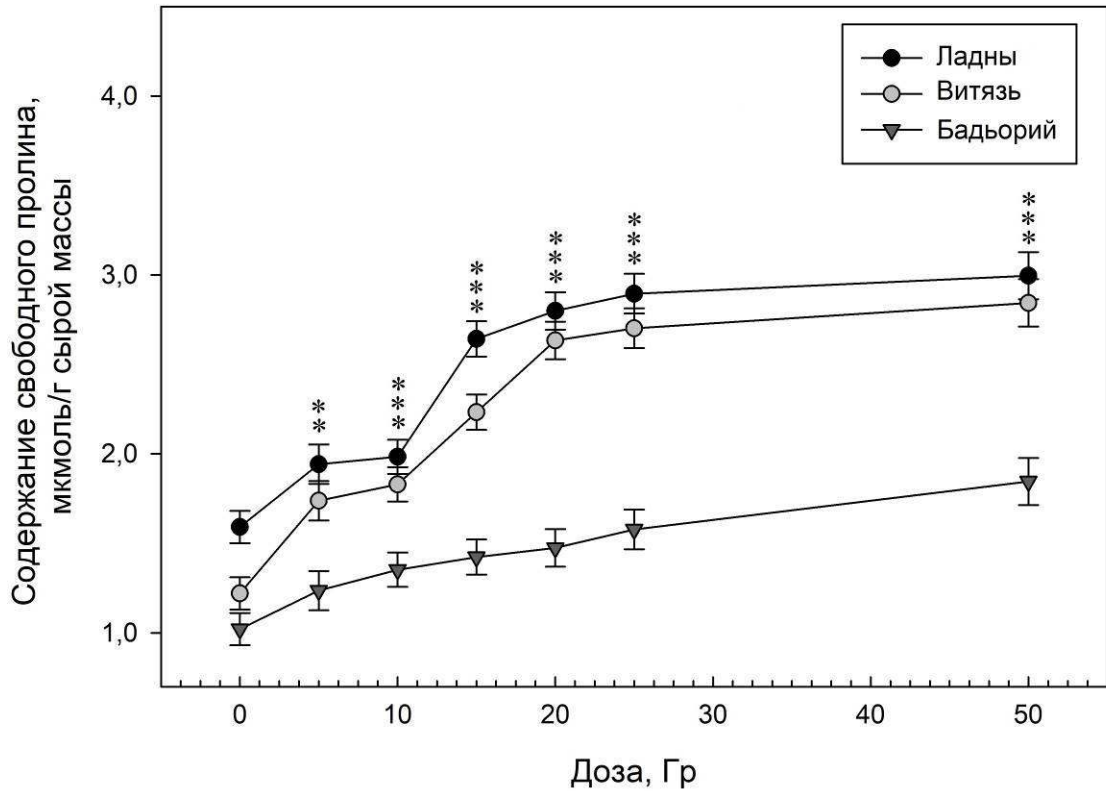


Рисунок 17 – Зависимость содержания свободного пролина (мкмоль/г сырой массы) от дозы облучения протонами на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Объяснением увеличения концентраций свободного пролина после прямого воздействия протонного излучения может служить шаперонная функция данной аминокислоты, ведь известна способность пролина поддерживать нативную структуру белков при неблагоприятных воздействиях и даже восстанавливать функциональную активность денатурированных белков [48].

Изменений содержания пролина в ростках ячменя обыкновенного после облучения ионами ^{12}C в диапазоне исследуемых доз не происходит (рис. 18).

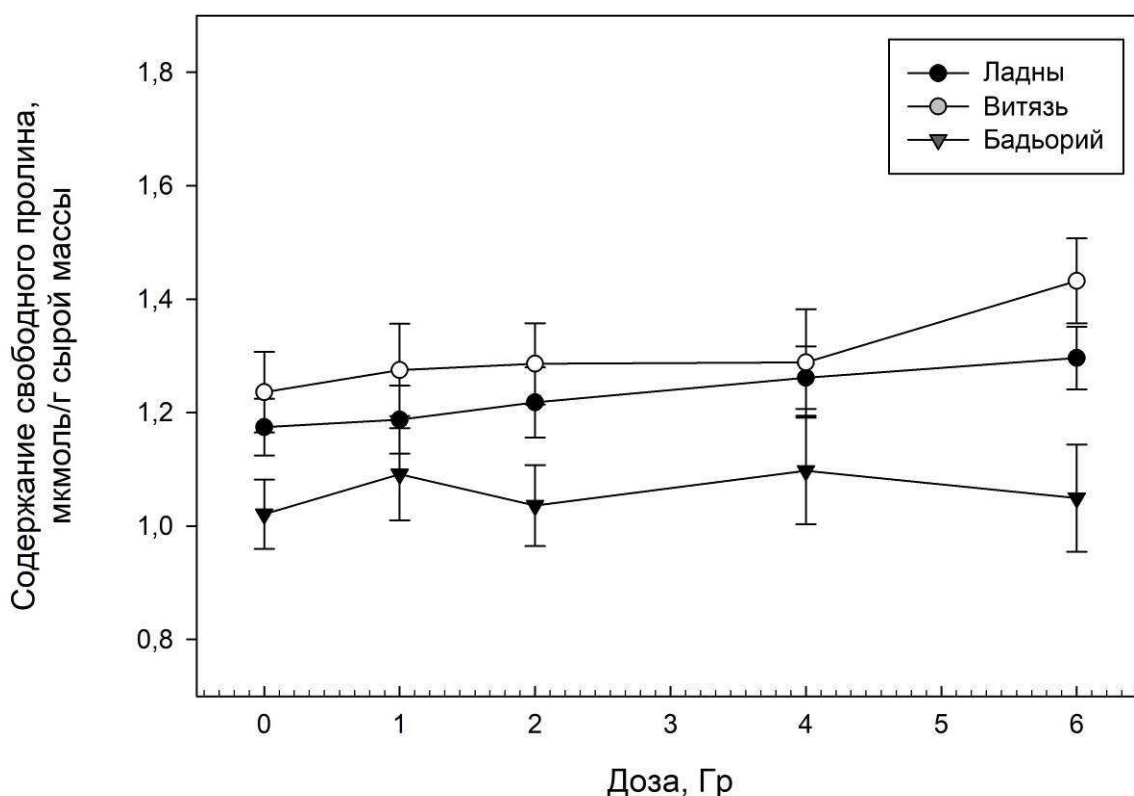


Рисунок 18 – Зависимость содержания свободного пролина (мкмоль/г сырой массы) от дозы облучения ионами ^{12}C на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

По современным представлениям, при действии ионизирующего излучения в растениях подавляется образование белков и усиливается распад уже сформированных белковых комплексов. Снижение синтеза белка проявляется в заметном уменьшении скорости роста и темпов развития растений, нарушении метаболических процессов. В научной публикации [69] было показано участие пролина в системе антиоксидантной защиты против окислительного стресса, вызванного обработкой листьев *Salvia officinalis* L. паракватом – источником супероксидных радикалов. Следовательно, пролин участвует в нейтрализации не только гидроксильных радикалов, как говорилось выше, но и супероксид радикала. Усиление биосинтеза одного из низкомолекулярных соединений приводит к перераспределению субстратов и энергетических затрат. Так, например, усиление биосинтеза пролина, приводящее к его накоплению в условиях засоления, требует достаточно большого количества глутамата. В результате расход глутамата в этой метаболической реакции снижает его пул, который может быть необходим для других реакций в метаболизме [32].

Соответственно, при гамма-облучении семян в изученном диапазоне доз, у проростков происходит значимое повышение содержание свободного пролина, за исключением доз 15 и 20 Гр. При облучении протонами в дозах 5-50 Гр выявлено повышение содержания свободного

пролина у сортов Витязь и Ладны, у сорта Бадьорий – начиная с дозы облучения 10 Гр. Изменений в концентрации свободного пролина у проростков ячменя трех сортов после облучения ионами ^{12}C в дозах 1-6 Гр не выявлено.

3.2.3 Содержание малонового диальдегида в растительном материале после действия ионизирующего излучения

Количество МДА свидетельствует о глубине перекисного окисления липидов и используется в качестве индикатора окислительного стресса. При воздействии различных неблагоприятных факторов среды, у организмов, в первую очередь повреждаются мембранные структуры, что приводит к увеличению концентрации малонового диальдегида – продукта перекисного окисления липидов в живых тканях, обусловленного активацией свободнорадикальных реакций в клетках [6Ошибка! Источник ссылки не найден.; 44]. В ходе экспериментов были получены данные об уровнях содержания МДА в растительном материале в зависимости от дозы гамма-излучения (рис. 19).

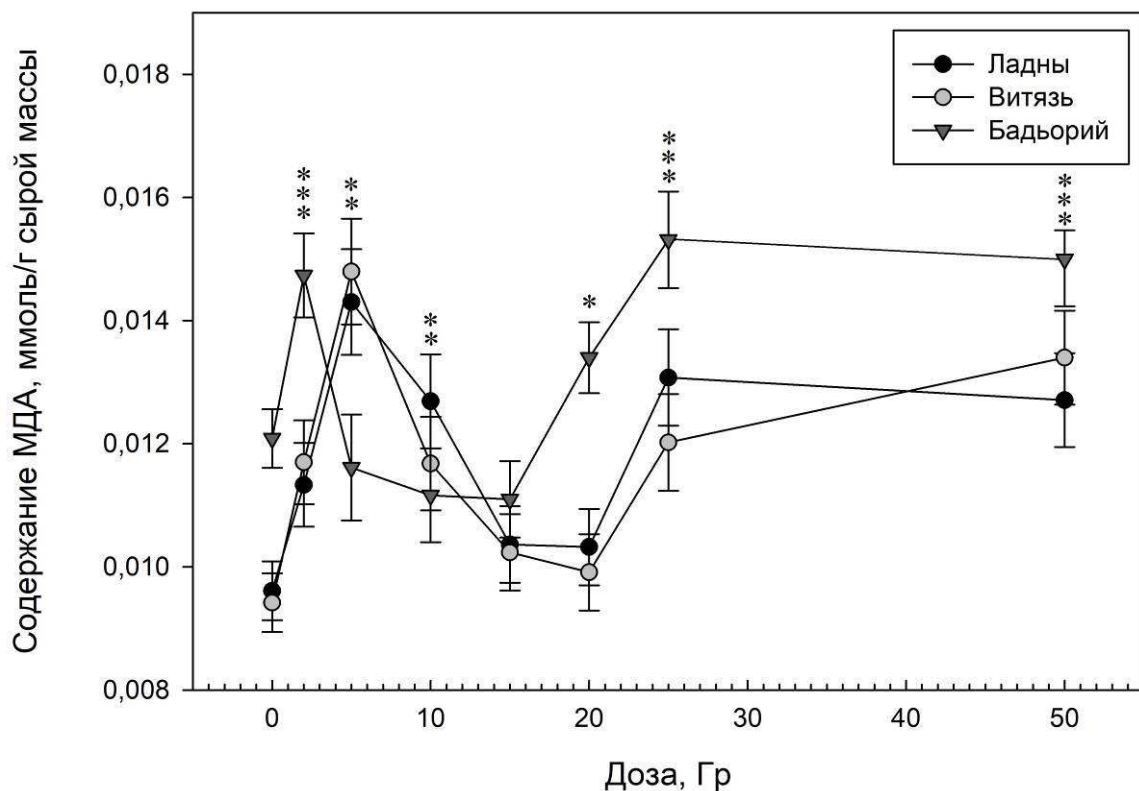


Рисунок 19 – Зависимость содержания МДА (ммоль/г сырой массы) от дозы гамма-облучения на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Выявлено, что у пророщенных семян ячменя сортов Ладны и Витязь статистически значимое повышение уровня МДА происходит при дозах облучения гамма-квантами 2, 5, 10, 25 и 50 Гр, у сорта Бадьорий – при облучении в дозах 2, 20, 25 и 50 Гр (рис. 19). Гамма-облучение в дозах 15 Гр (для сортов Витязь и Ладны) и 20 Гр (для всех сортов), удерживает МДА на уровне с контрольными значениями, что может говорить о нормализации процесса ПОЛ.

Можно предположить, что с увеличением поглощенной дозы редкоионизирующего излучения увеличивается количество свободных радикалов, что является не только следствием нарушения антиоксидантно-прооксидантного гомеостаза, а представляет собой важный компонент фенотипической адаптации, так как АФК и МДА являются сигнальными молекулами при развитии стрессовой реакции у растений [38]. Облучение дозами 15 Гр и 20 Гр приводит к формированию адаптационно-приспособительных реакций, включающих модуляцию антиоксидантной и фитогормональной систем, а также увеличение интенсивности работы пентозофосфатного пути окисления глюкозы, который участвует в защите клетки от радиационно-индуцированного апоптоза [23]. Кроме того, увеличивается содержание каротиноидов, которые защищают липиды от перекисного окисления за счет нейтрализации свободных кислородных радикалов [5]. Перекиси, АФК, продукты ПОЛ и другие внутриклеточные вещества сильно влияют на мембраны. Клеточные мембраны, будучи динамичными структурами, незамедлительно реагируют на отклонения в окружающих их условиях, иницируя цепь метаболических сдвигов в клетке [6]. Дальнейшее увеличение поглощенной дозы ионизирующего излучения вызывает крупномасштабные повреждения в мембранах, нарушая их функции и повышая содержание МДА. Такая реакция на продукты радиолиза воды влечет за собой деполяризацию мембранного потенциала со сдвигом рН в кислую сторону, синтез стрессовых белков [69] и, как показано выше, снижение концентрации хлорофиллов [5]. Конструктивные перестройки в мембранах, вызванные воздействием малых доз гамма-излучения, сохраняются в течение продолжительного времени и могут приводить к изменению функциональной активности клеток [90]. Малые дозы радиации способны запускать мембранный механизм активизации генома растительных организмов посредством инициирования аденилатциклазной системы и сигнального пути с участием циклического аденозинмонофосфата [57]. Мембранная регуляция процессов осуществляется благодаря связыванию или освобождению регуляторных белков, изменениям в мембранном транспорте и активности мембранных ферментов. Все функции мембран – барьерная, транспортная, осмотическая, энергетическая, рецепторно-регуляторная и др. – одновременно являются и разными сторонами механизмов регулирования обмена веществ внутри клетки.

При нарушении целостности мембраны и/или потери своих барьерных свойств, клетка теряет часть низкомолекулярных субстратов. Это событие запускает механизм неспецифического регулирования активности ферментов репарации ДНК [93]. Изменение проницаемости биомембран может выступать в качестве иницирующего фактора, который способствует переходу хроматина в новое стационарное состояние [26]. Данные конформационные изменения в структуре хроматина вызывают изменения в экспрессии генов [40; 57], что приводит к переключению клеток на новый режим функционирования, например, ускорению процессов деления, дифференциации и т.д.

В нашем исследовании по влиянию плотноионизирующего излучения на содержание МДА в ростках ячменя обыкновенного трех сортов не выявлено отличий от контроля, как в случае применения протонного излучения (рис. 20), так и в случае действия тяжелых ионов ^{12}C (рис. 21).

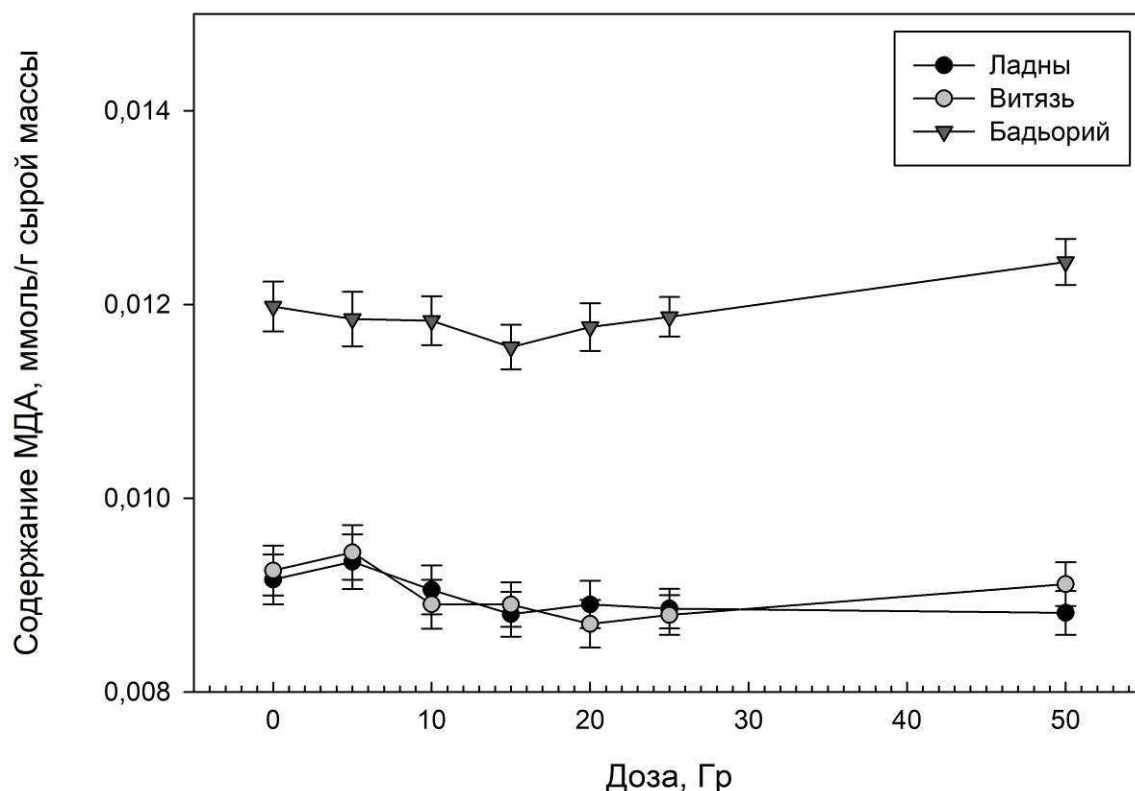


Рисунок 20 – Зависимость содержания МДА (ммоль/г сырой массы) от дозы облучения протонами на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

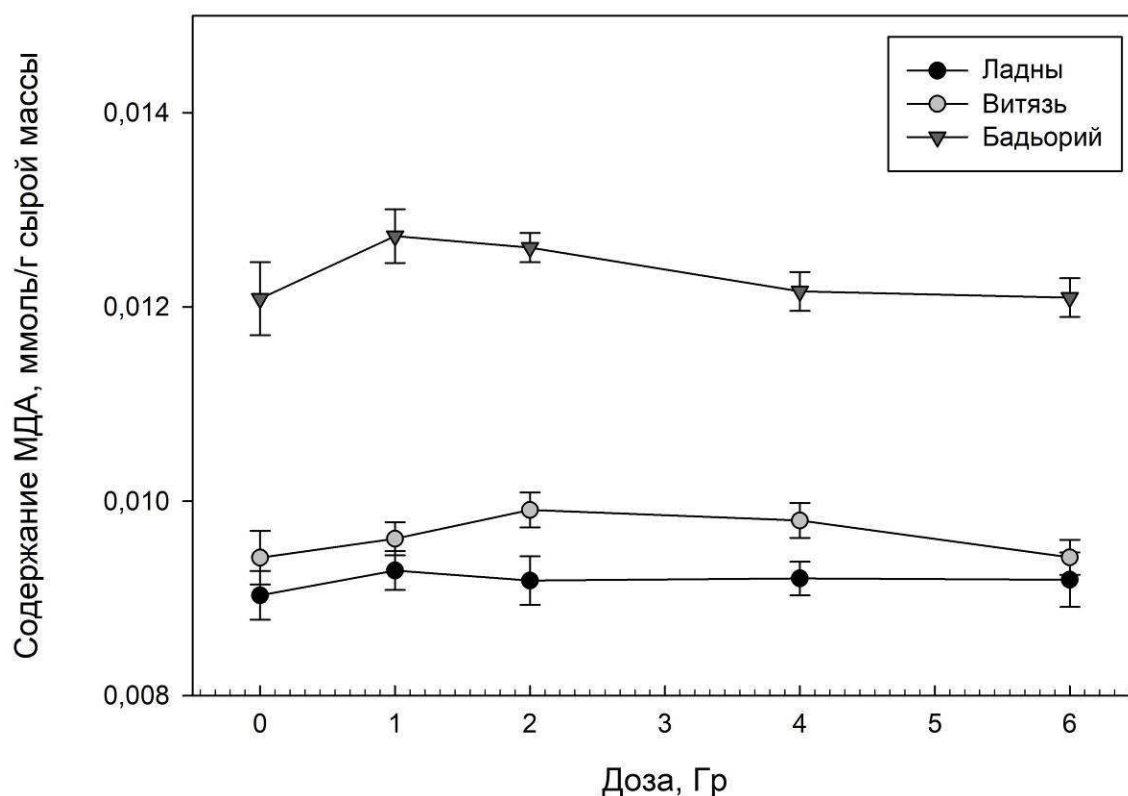


Рисунок 21 – Зависимость содержания МДА (ммоль/г сырой массы) от дозы облучения ионами ^{12}C на 10 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Отсутствие эффекта обуславливается тем, что плотноионизирующие излучения, в начале своего пробега (до пика Брэгга) имеют относительно низкую ЛПЭ. Распределение актов ионизации происходит на прямолинейном отрезке пути пробега в веществе, поэтому основной вклад в радиобиологический эффект вносит прямой механизм действия на чувствительные структуры клеток. Образование АФК при действии плотноионизирующего излучения происходит не во всем объеме клетки, косвенное действие незначительно, и, следовательно, процесс ПОЛ не происходит или происходит слабо. Однако помимо кулоновского взаимодействия с атомными электронами и упругого ядерного рассеяния, протоны, которые движутся внутри вещества, испытывают неупругие ядерные взаимодействия, испуская вторичные частицы, такие как нейтроны, фотоны, вторичные протоны, дейтроны [20; 130]. При взаимодействии с веществом тяжелые заряженные частицы при облучении на «простреле» не испускают вторичные частицы. Спектр вторичных частиц зависит от энергии протонов, следовательно, уровень МДА может изменяться [173]. В работе исследователей из Китая [125] показано изменение уровней МДА на фазе начала цветения (зацветание первого цветка) у сои сорта Dongsheng 28 после облучения пучком ионов углерода с энергией 80 МэВ/нуклон в дозах 70-140 Гр.

В результате проведенных исследований продемонстрировано, что, у проростков *Hordeum vulgare* L. трех изученных сортов значимое повышение уровня МДА происходит при гамма-облучении в дозах 2, 5, 10, 25 и 50 Гр. При влиянии плотноионизирующего излучения содержание МДА не изменяется в изученном диапазоне доз.

3.3 Влияние ионизирующего излучения на изменение генетических показателей ячменя

3.3.1 Изменение митотического индекса после действия ионизирующего излучения

В данной работе оценивали митотический индекс (МИ) в корневой меристеме ячменя обыкновенного трех сортов, как отношение делящихся клеток в меристеме корней проросших облученных семян к общему числу клеток по формуле (7). Согласно данным, представленным на рис. 22, существенных различий в МИ между контрольными образцами и проростками из семян, облученных гамма-квантами в различных дозах, не выявлено, за исключением дозы 50 Гр, при которой наблюдается значительное снижение митотического индекса.

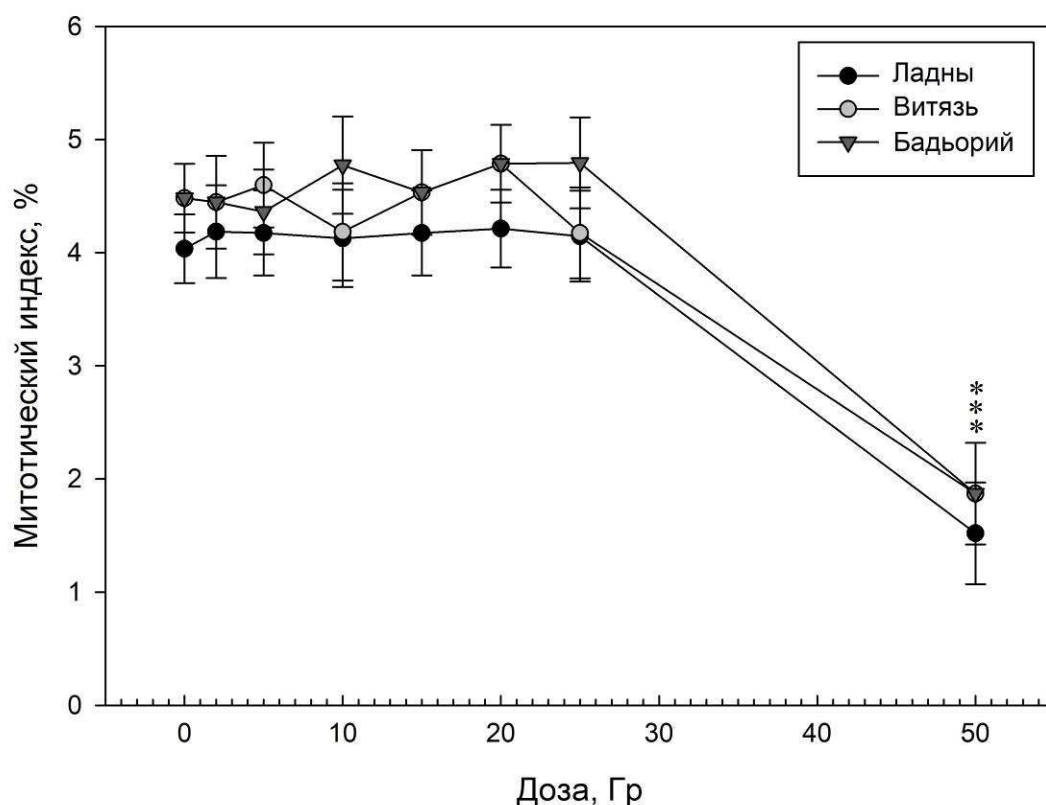


Рисунок 22 – Зависимость митотического индекса в корневой меристеме ячменя от дозы гамма-облучения на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

На основе полученных результатов можно сделать вывод, что стимулирующий эффект гамма-облучения в дозах 15 и 20 Гр, наблюдаемый по увеличению длины главного корня и ростка, не связан с усилением деления клеток меристематических тканей проростков *Hordeum vulgare* L. [8]. Данный эффект, в таком случае, обусловлен не увеличением активности клеточного деления клеток в корневой меристеме, а увеличением клеток растяжением [4]. В защиту этой гипотезы свидетельствует исследование [14], показавшее, что при обработке семян ячменя сорта Нур стимулирующими дозами гамма-облучения повышаются уровни фитогормонов из группы ауксинов, которые отвечают за так называемый «кислый рост». При «кислом росте» происходит растяжение клеточных стенок за счет активизации ауксинами работы мембранных H^+ -АТФаз, что приводит к закислению пространства между плазмалеммой и клеточной стенкой. Под действием кислой среды активируются экспансины, разрушающие водородные связи между целлюлозными микрофибриллами, позволяя клетке расширяться под действием тургорного давления [4; 8].

В ходе экспериментальных исследований влияния протонного излучения на изменение митотического индекса были выявлены статистически значимые различия при проращении облученных семян на 1-ые сутки после облучения (рис. 23).

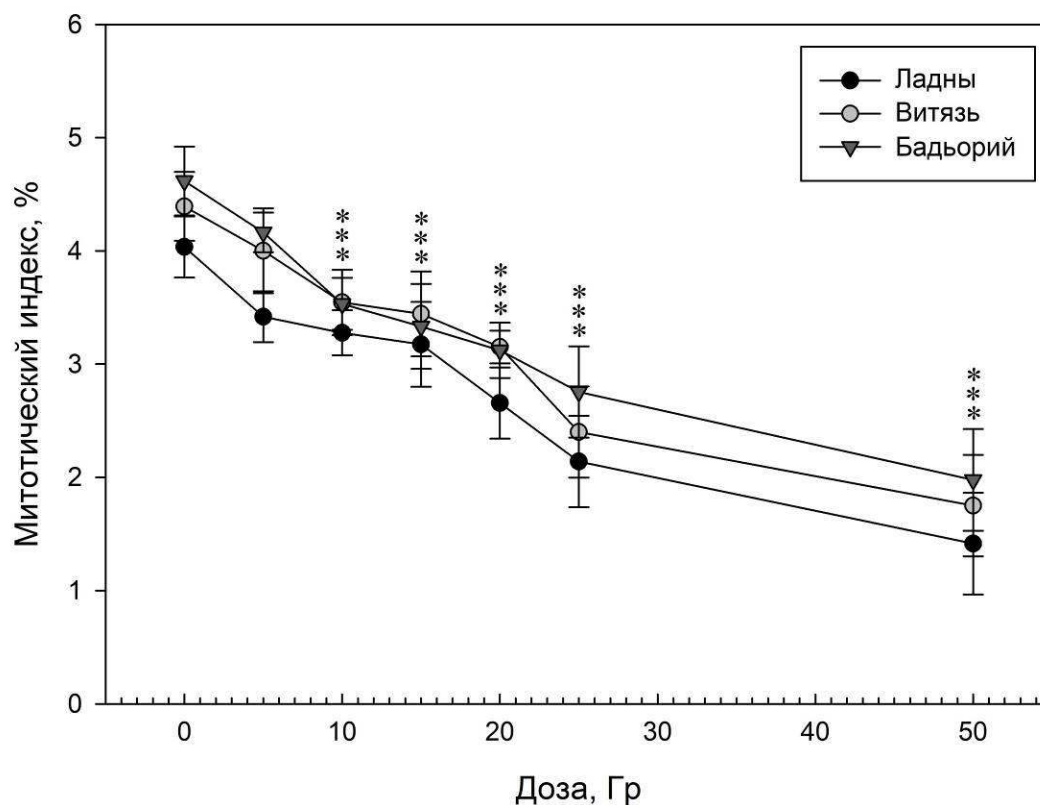


Рисунок 23 – Зависимость митотического индекса в корневой меристеме ячменя от дозы облучения протонами на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Из рис. 23 видно, что МИ снижался, начиная с дозы облучения протонами 10 Гр. Однако остается открытым вопрос о выраженном ингибировании клеточного деления после облучения семян гамма-квантами и протонами в дозе 50 Гр. Вероятно, данный эффект обусловлен повышением частоты хромосомных аномалий в клетках корневой меристемы.

Результаты исследования действия тяжелых ионов ^{12}C на МИ не выявили статистически значимых отличий от контроля при всех рассматриваемых дозах облучения (рис. 24).

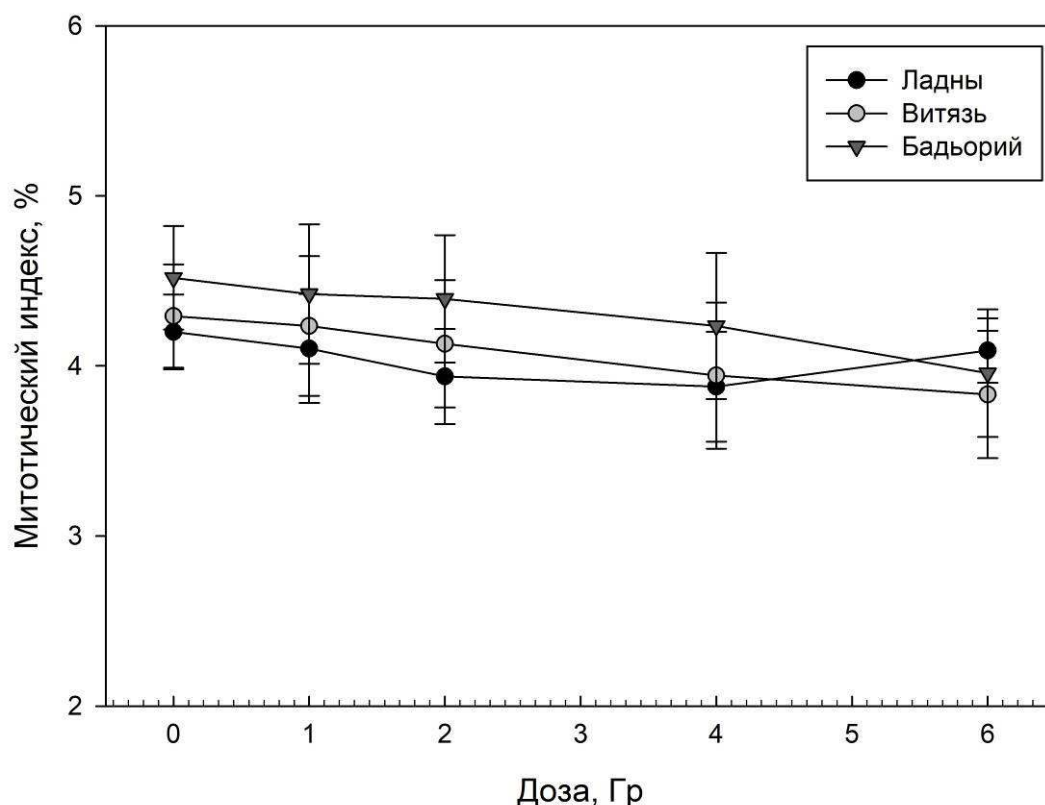


Рисунок 24 – Зависимость митотического индекса в корневой меристеме ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Отсутствие изменений митотической активности в корневой меристеме ячменя трех сортов после облучения тяжелыми ионами углерода может быть связано с тем, что поражение клеток тяжелыми ионами носило летальный характер, в результате чего клетки погибали до вступления в митоз.

3.3.2 Частота и спектр цитогенетических нарушений после действия ионизирующего излучения

Следующим этапом работы стало изучение влияния облучения разного качества на частоту появления в клетках цитогенетических нарушений. Частоту цитогенетических нарушений определяли с помощью ана-телофазного теста в клетках меристемы корней однодневных проростков ячменя обыкновенного трех сортов. Результаты влияния гамма-облучения на частоту цитогенетических нарушений представлены на рис. 25.

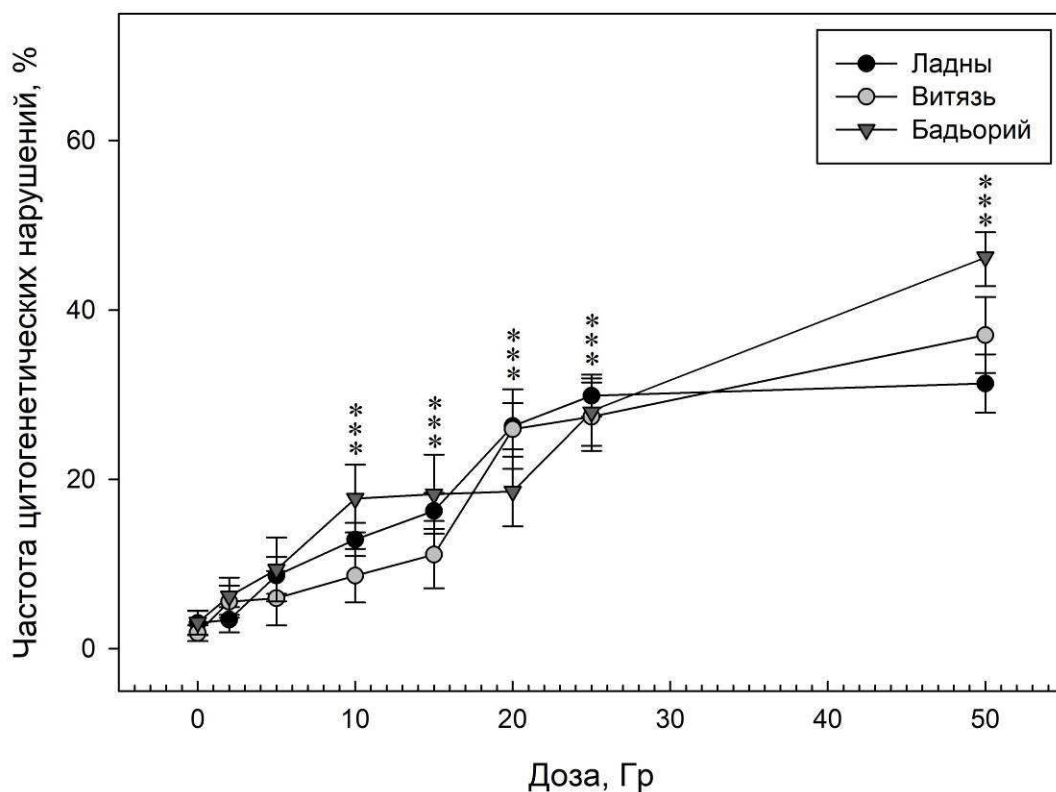


Рисунок 25 – Зависимость частоты цитогенетических нарушений в корневой меристеме ячменя от дозы гамма-облучения на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Гамма-облучение привело к зависимому от дозы увеличению частоты цитогенетических нарушений в меристеме корней проростков ячменя обыкновенного, за исключением доз гамма-облучения 2 и 5 Гр. Несмотря на положительный эффект гамма-излучения, наблюдаемый по морфологическим и биохимическим показателям, число клеток с аномалиями возрастало, начиная с дозы облучения 10 Гр. Также следует отметить, что при гамма-облучении в дозе 50 Гр у большинства исследованных клеток наблюдались «слипшиеся хромосомы», которые не были замечены при других исследуемых дозах (рис. 26). Данный радиобиологический эффект схож с токсическим действием свинца, известного как мощный окислитель. Вероятно, повреждения, вызванные продуктами косвенного действия радиации, приводят к набуханию хромосом, нарушая их нормальную структуру и вызывая слипание их в комковатые массы. Вследствие этого клетки погибают, так как расхождение хромосом невозможно [8; 79].

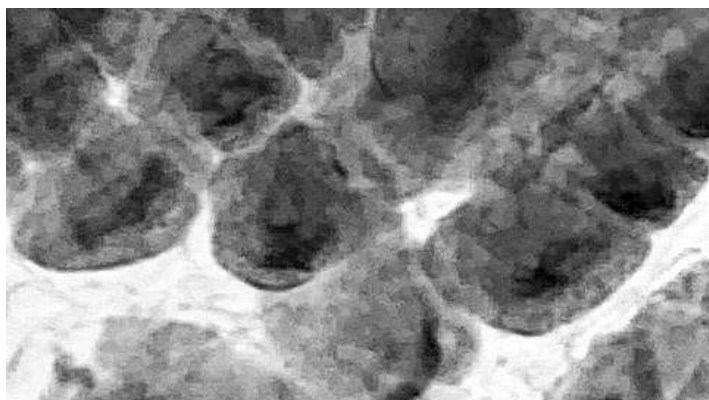


Рисунок 26 – Нетипичный вариант цитогенетических аномалий («слипание хромосом»)

Зависимость частоты цитогенетических нарушений в корневой меристеме ячменя обыкновенного трех сортов от дозы облучения протонами представлена на рис. 27.

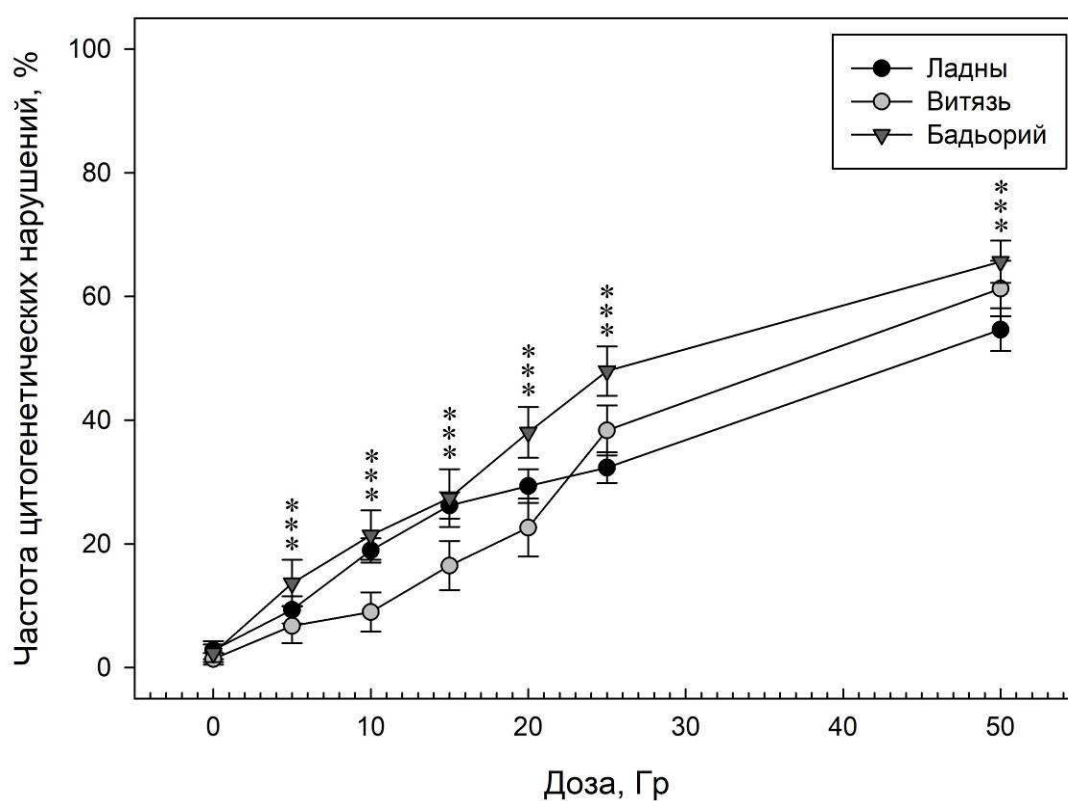


Рисунок 27 – Зависимость частоты цитогенетических нарушений клеток в корневой меристеме ячменя от дозы облучения протонами на 1 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Анализ частот цитогенетических нарушений в клетках корневой меристемы ячменя, после облучения протонами показал, что все исследуемые дозы облучения статистически значимо отличались от контроля (рис. 27). Наибольшая частота цитогенетических аномалий наблюдалась после облучения протонами в дозе 50 Гр, как и после гамма-облучения.

На рис. 28 представлена зависимость влияния облучения ионами ^{12}C . Показано увеличение частоты цитогенетических нарушений в дозах 4 и 6 Гр (рис. 28) несмотря на то, что митотическая активность не изменялась в изученном диапазоне доз (рис. 24).

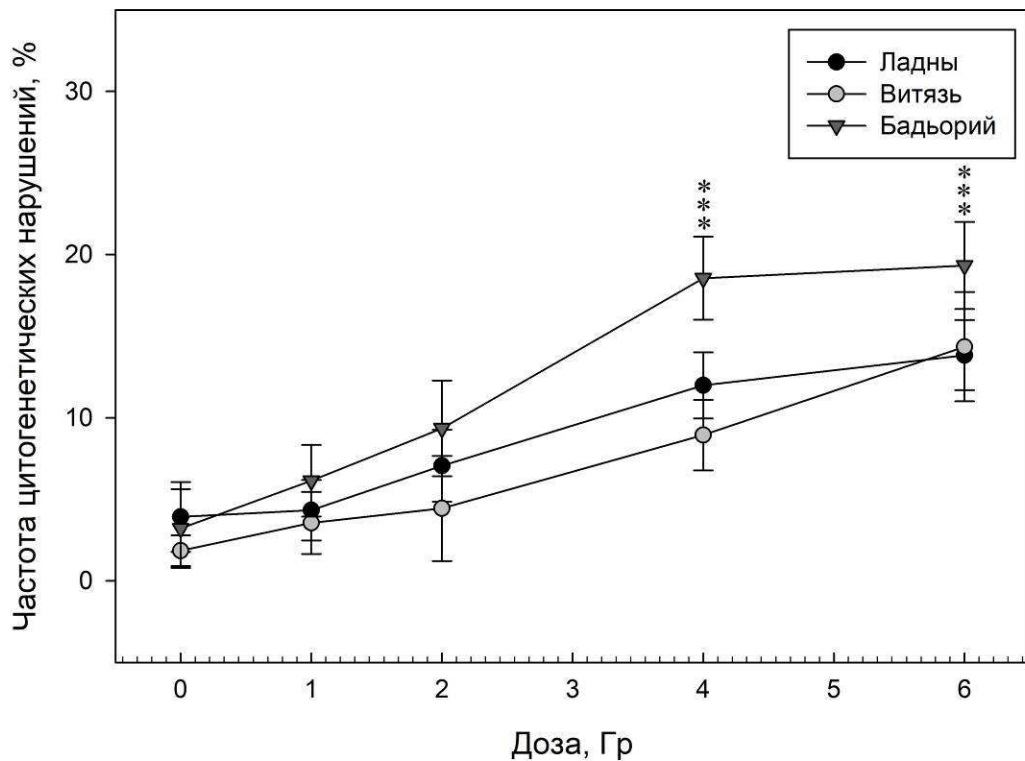


Рисунок 28 – Зависимость частоты цитогенетических нарушений в корневой меристеме ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Анализируя частоты цитогенетических нарушений после воздействия редко- и плотноионизирующего излучения, можно прийти к выводу, что облучение протонами в дозах 25 и 50 Гр показало более высокий процент клеток с аномалиями, чем облучение гамма-квантами в тех же дозах. Объяснить полученный эффект можно различиями в пространственном распределении поглощенной энергии в облучаемом биосубстрате. В случае облучения ионами ^{12}C , дозы 4 и 6 Гр вызывали схожие частоты цитогенетических аномалий, сопоставимые с результатами облучения протонами в дозе 5 Гр. В то же время гамма-облучение в дозах 2 и 5 Гр не приводило к статистически значимому увеличению цитогенетических аномалий.

Далее был проанализирован спектр цитогенетических нарушений (К) по формуле (9). Спектр аномалий после гамма-облучения в клетках корневой меристемы ячменя обыкновенного трех сортов представлен в таблице 1.

Ведущую роль в генотоксическом эффекте при гамма-облучении играли отставания хромосом (55,26% у сорта Ладны, 46,94% у сорта Витязь, 51,22% у сорта Бадьорий от общего спектра цитогенетических нарушений). У сорта Ладны хромосомные мосты и фрагменты вносили 24,07% и 16,2% соответственно нарушений в общий спектр, у сорта Витязь – 24,47% и 13,64%, у сорта Бадьорий – 20,23% и 19,35%.

Результаты по спектру цитогенетических нарушений после облучения протонами представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Спектр цитогенетических нарушений в корневой меристеме пророщенных семян ячменя обыкновенного трех сортов после облучения протонами

Доза, Гр К	0	5	10	15	20	25	50
сорт Ладны							
Мост	-	0,0163	0,0304	0,0418	0,0347	0,0388	0,0661
Двойной мост	-	-	-	0,0163	0,0270	0,0238	0,0401
Одиночный фрагмент	-	0,0329	0,0612	0,0754	0,0998	0,1365	0,1806
Двойной фрагмент	-	-	0,0153	0,0169	0,0194	0,0211	0,0354
Отставание	0,0284	0,0443	0,0826	0,1119	0,1126	0,1032	0,1711
Трехполосный митоз	-	-	-	-	-	-	0,0531
сорт Витязь							
Мост	-	0,0331	0,0422	0,0623	0,0328	0,0748	0,1303
Двойной мост	-	-	-	-	-	0,0324	0,0601
Одиночный фрагмент	-	-	-	0,0197	0,0595	0,0823	0,1355
Двойной фрагмент	-	-	-	-	-	0,0245	0,0309
Отставание	0,0142	0,0345	0,0477	0,0831	0,1201	0,1426	0,2105
Трехполосный митоз	-	-	-	-	0,0141	0,0269	0,0457
сорт Бадьорий							
Мост	-	0,0242	0,0468	0,0721	0,0925	0,1202	0,1675

Продолжение Таблицы 2

Доза, Гр К	0	5	10	15	20	25	50
Двойной мост	-	-	0,0154	-	0,0274	0,0265	0,0347
Одиночный фрагмент	0,0101	0,0346	0,0458	0,0634	0,0745	0,0998	0,1524
Двойной фрагмент	-	0,0188	0,0173	0,0153	0,0197	0,0264	0,0351
Отставание	0,0134	0,0589	0,0888	0,1234	0,1486	0,1809	0,2268
Трехполюсный МИТОЗ	-	-	-	-	0,0176	0,0257	0,0396

Большую часть всех цитогенетических нарушений занимали отставания хромосом (у сорта Ладны – 37,66%, у сорта Витязь – 41,85%, у сорта Бадьорий – 38,85%), одиночные фрагменты и мосты составляли 33,76% и 13,13% у сорта Ладны, у сорта Витязь – 19,04% и 24,07%, у сорта Бадьорий – 22,21% и 24,18% соответственно от общего числа цитогенетических нарушений.

Спектр цитогенетических нарушений в корневой меристеме пророщенных семян ячменя обыкновенного трех сортов после облучения ионами ^{12}C представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Спектр aberrаций в корневой меристеме пророщенных семян ячменя после облучения ионами ^{12}C

Доза, Гр К	0	1	2	4	6
сорт Ладны					
Мост	0,0112	0,0108	0,0417	0,0505	0,0752
Двойной мост	-	-	0,0289	0,0256	0,0252
Одиночный фрагмент	-	0,0324	0,0443	0,0731	0,0874
Двойной фрагмент	-	-	-	0,0269	0,0122
Отставание	0,0172	0,0503	0,0746	0,0862	0,0935
Трехполюсный митоз	-	-	-	-	-

Продолжение Таблицы 3

Доза, Гр К	0	1	2	4	6
сорт Витязь					
Мост	0,0185	0,0133	0,0217	0,0313	0,0453
Двойной мост	-	-	-	-	0,0174
Одиночный фрагмент	-	-	-	0,0184	0,0473
Двойной фрагмент	-	-	-	-	-
Отставание	-	0,0222	0,0227	0,0396	0,0535
Трехполюсный митоз	-	-	-	-	-
сорт Бадьорий					
Мост	0,0159	0,0276	0,0369	0,0591	0,0733
Двойной мост	-	-	-	0,0281	0,0271
Одиночный фрагмент	-	0,0109	0,0286	0,0399	0,0386
Двойной фрагмент	-	-	-	-	-
Отставание	0,0162	0,0228	0,0279	0,0584	0,0542
Трехполюсный митоз	-	-	-	-	-

Спектр цитогенетических нарушений представлен отставаниями – 37,11% у сорта Ладны, у сорта Витязь – 39,29%. Одиночные фрагменты и мосты составили у сорта Ладны – 27,35% и 21,84% соответственно, у сорта Витязь – 18,71% и 37,04%. У сорта Бадьорий основной цитогенетический эффект проявлялся в образовании мостов – 37,63%, одиночные фрагменты и отставания составляли 20,87% и 31,74%.

Таким образом, снижение митотической активности после облучения гамма-квантами отмечено при 50 Гр, тогда как после облучения протонами этот эффект проявляется уже при облучении в дозе 10 Гр и выше. Частота цитогенетических нарушений статистически достоверно превышает контроль после гамма-облучения в дозе 10 Гр и выше. После облучения протонами – во всем рассматриваемом диапазоне доз, после облучения тяжелыми ионами ^{12}C – в дозах 4 и 6 Гр. Большее количество просмотренных клеток корневой меристемы ячменя после облучения гамма-квантами в дозе 50 Гр представлено «слипшимися» хромосомами. В случае редкоионизирующего излучения основной генотоксический эффект представлен отставаниями хромосом. Тогда как плотноионизирующее излучение в большинстве случаев приводило к отставаниям хромосом, мостам и одиночным фрагментам.

3.3.3 Изменение экспрессии генов стрессового ответа после действия ионизирующего излучения

На рис. 29 представлен график зависимости относительной экспрессии гена HORVU5Hr1G125450, кодирующего мембранный белок PM19L в зародышах ячменя, от дозы облучения гамма-квантами на 1-ые сутки проращивания.

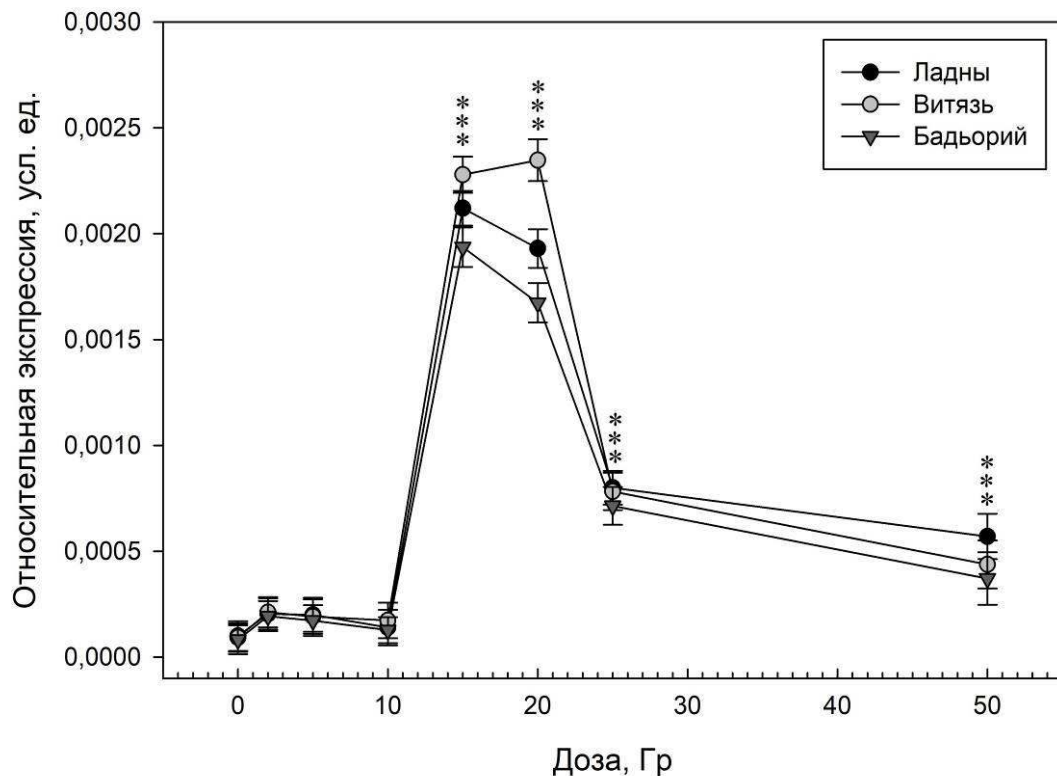


Рисунок 29 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5Hr1G125450, кодирующего мембранный белок PM19L в зародышах ячменя от дозы гамма-облучения на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

В настоящем исследовании транскрипционная активность гена HORVU5Hr1G125450, кодирующего мембранный белок PM19L, на первые сутки проращивания статистически значимо усиливается при гамма-облучении в дозах 15, 20, 25 и 50 Гр (рис. 29). Причем при облучении гамма-квантами в дозах 15 и 20 Гр наблюдается самая высокая активность рассматриваемого гена, что соотносится с данными по изменению морфометрических показателей после облучения гамма-квантами.

Иная картина наблюдается при исследовании изменения гена у проростков ячменя, как в ростках, так и в корнях. Из данных, представленных на рис. 30, следует, что только у сорта Бадьорий наблюдалась повышенная экспрессия рассматриваемого гена в ростках на 7-ые сутки

проращивания после облучения в дозах 15 Гр и выше. Отмечалось также повышение экспрессии гена для сортов Ладны и Витязь после облучения в дозе 50 Гр (рис.30).

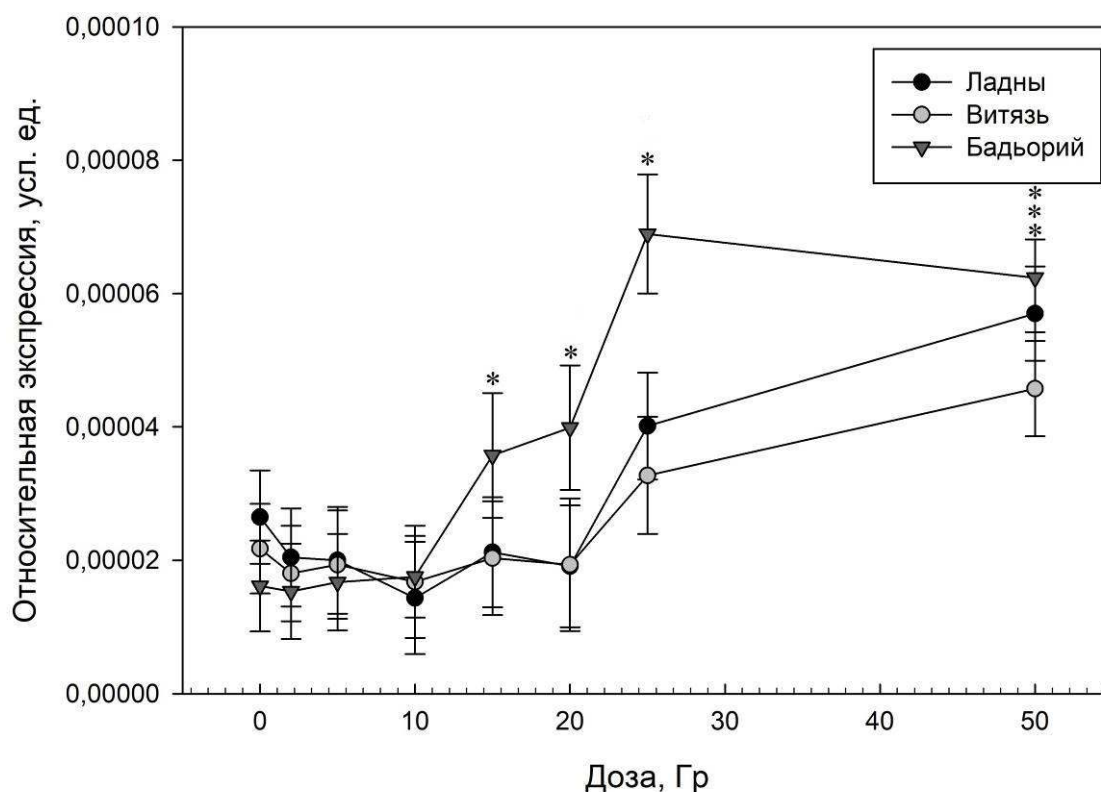


Рисунок 30 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5HrIG125450, кодирующего мембранный белок PM19L в ростках ячменя от дозы гамма-облучения на 7 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Исследование взаимосвязи относительной экспрессии гена, кодирующего мембранный белок PM19L в корнях ячменя обыкновенного от дозы облучения гамма-квантами на 7-ые сутки проращивания представлены на рисунке 31. Отмечено, что у сортов Витязь и Ладны повышена транскрипционная активность рассматриваемого гена в корнях после облучения в дозах 25 и 50 Гр. У сорта Бадьорий наблюдалась повышенная экспрессия гена только после облучения в дозе 50 Гр (рис.31).

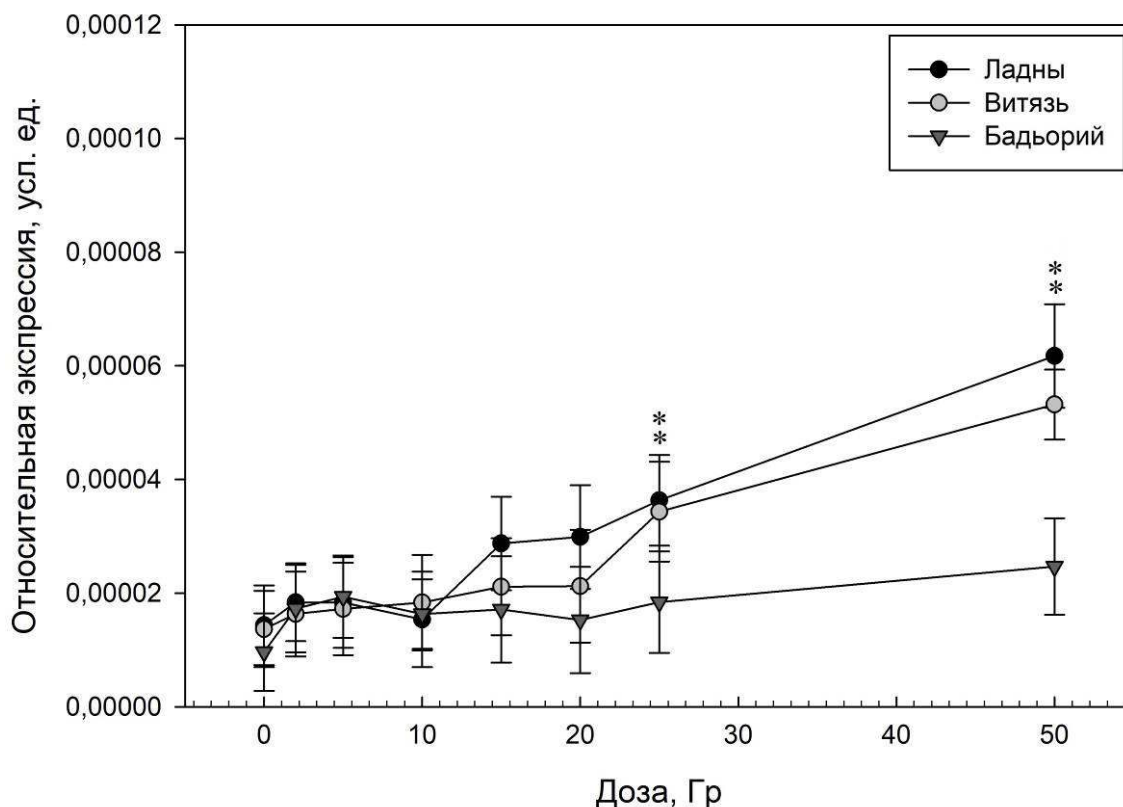


Рисунок 31 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5Hr1G125450, кодирующего мембранный белок PM19L в корнях ячменя от дозы гамма-облучения на 7 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Белок PM19L регулирует проращение семян, посредством взаимодействия с сигнальными путями АБК. В зародышах ячменя гамма-облучение в дозах 15 и 20 Гр вызывало значительное усиление транскрипционной активности гена, кодирующего PM19L, что может объяснять интенсификацию ростовых процессов на самых ранних этапах онтогенеза. Однако гамма-облучение в дозах 25 и 50 Гр на 1-ые сутки так же повышают экспрессию гена, кодирующего рассматриваемый мембранный белок. Это может свидетельствовать об участии данного белка и в других физиологических процессах, не связанных с АБК. Гиперпродукция белка PM19L может влиять на обмен веществ, что может привести к изменению энергетического баланса растений. Стоит отметить, что на 1-ые сутки проращивания после гамма-облучения в стимулирующих рост и развитие растений дозах (15 и 20 Гр) транскрипционная активность гена, кодирующего PM19L в 2,3-5,7 раз выше значений, полученных при облучении в дозах 25 и 50 Гр. Это подтверждает возможность использования гена HORVU5Hr1G125450 в качестве кандидата радиационной стимуляции [185], однако, только на 1-ые сутки проращивания.

К седьмым суткам проращивания повышенная экспрессия гена в ростках и корнях у разных сортов неодинакова. У всех трех сортов повышение экспрессии наблюдалось только в

побегах после гамма-облучения в дозе 50 Гр. Объяснить подобные сортовые различия можно генетической изменчивостью и/или различиях в сигнальных путях.

График зависимости влияния протонного облучения на относительную экспрессию гена HORVU5Hr1G125450 в зародышах ячменя на 1-ые сутки проращивания представлен на рис. 32.

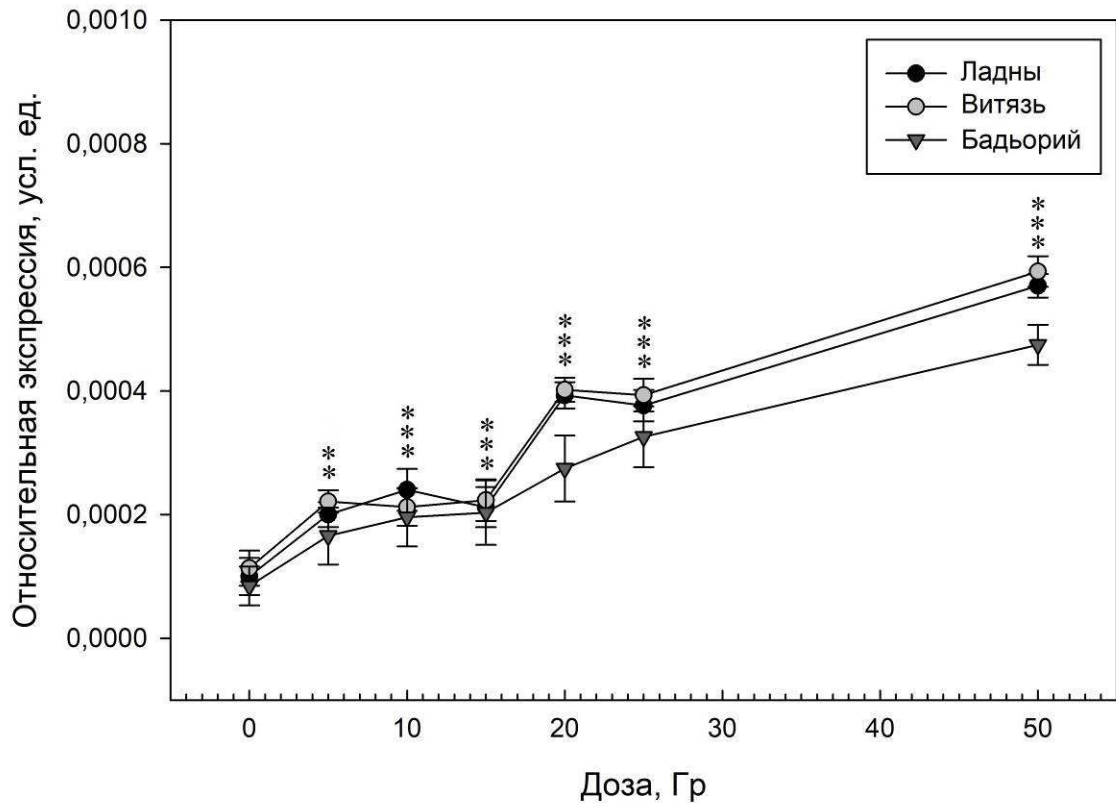


Рисунок 32 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5Hr1G125450, кодирующего мембранный белок PM19L в зародышах ячменя от дозы облучения протонами на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

У сортов Витязь и Ладны увеличение экспрессии гена, кодирующего мембранный белок PM19L, происходит при всех исследуемых дозах облучения протонами, у сорта Бадьорий – начиная с облучения в дозе 10 Гр. Самая активная экспрессия наблюдается при дозе протонного облучения 50 Гр (рис. 32).

Результаты по действию протонного облучения на транскрипционную активность гена HORVU5Hr1G125450 в ростках ячменя обыкновенного трех сортов на 7-ые сутки проращивания представлены на рис. 33.

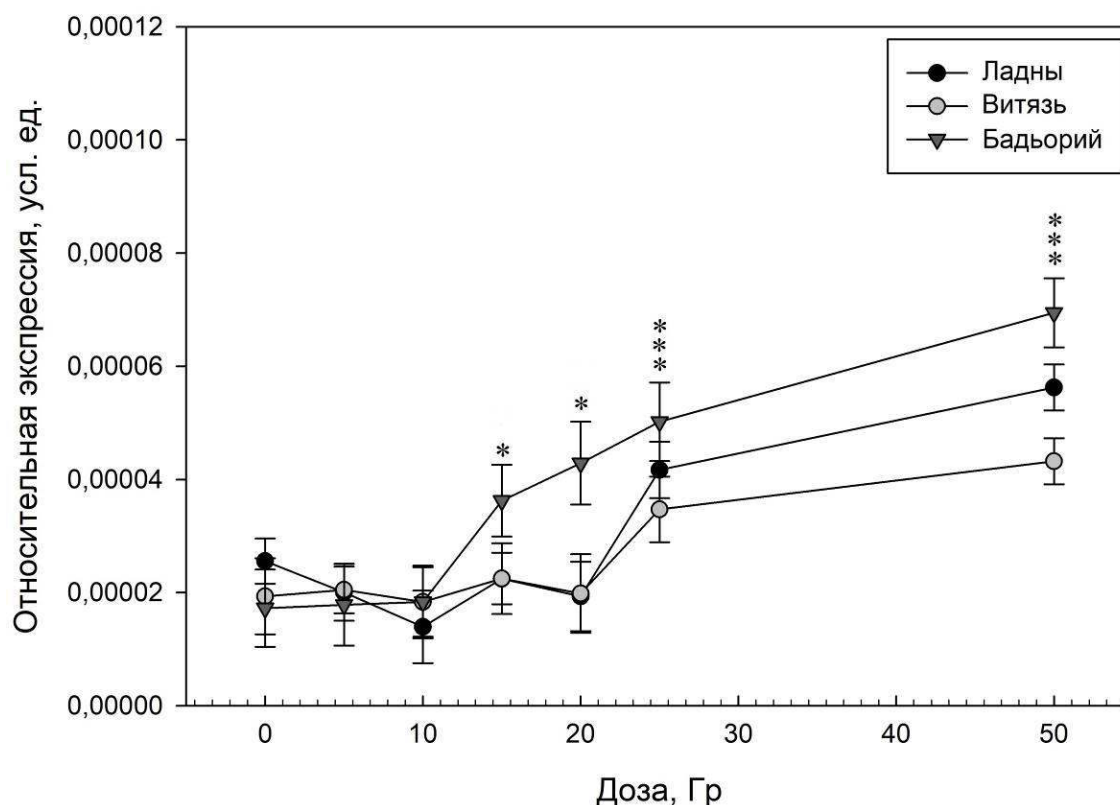


Рисунок 33 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5Hr1G125450, кодирующего мембранный белок PM19L в ростках ячменя от дозы облучения протонами на 7 сутки проращивания

Из данных видно, что увеличение экспрессии гена, кодирующего белок PM19L, в ростках ячменя сорта Бадьорий происходит при дозах облучения протонами 15-50 Гр, у сорта Витязь и Ладны – 25 и 50 Гр.

Результаты влияния облучения протонами на транскрипционную активность гена HORVU5Hr1G125450 в корнях ячменя обыкновенного на 7-ые сутки проращивания представлены на рис. 34.

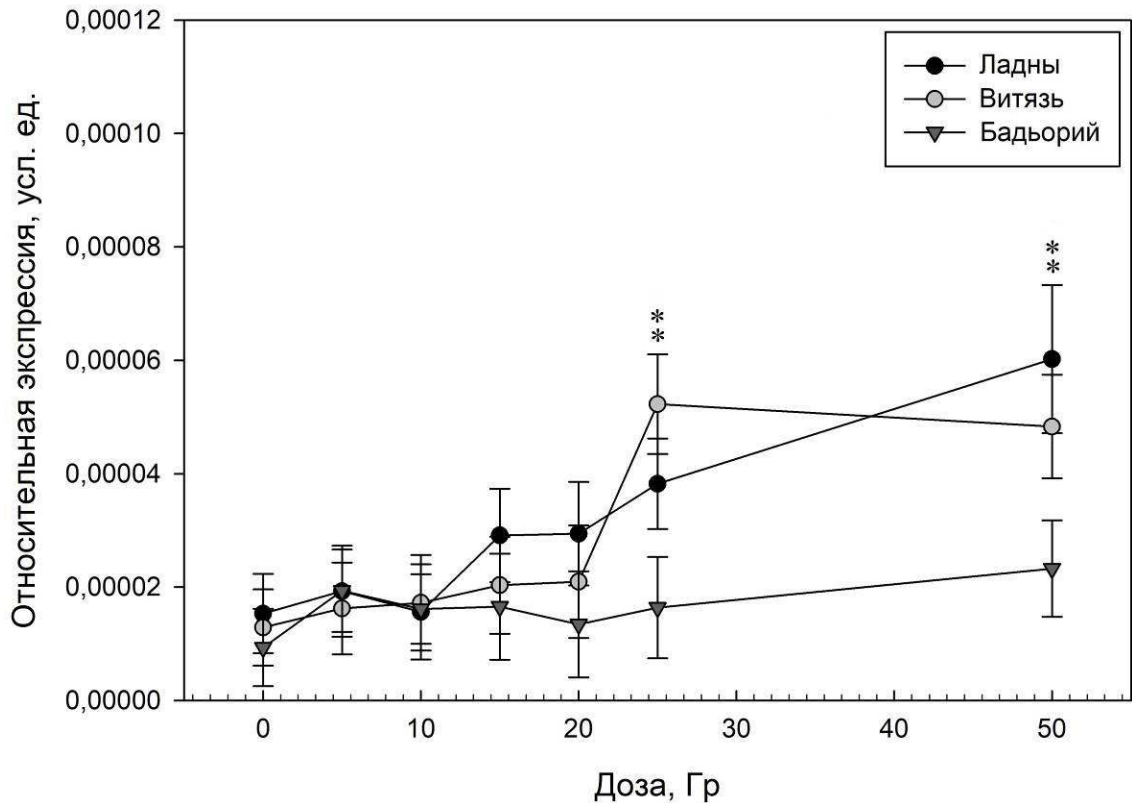


Рисунок 34 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5HrIG125450, кодирующего мембранный белок PM19L в корнях ячменя от дозы облучения протонами на 7 сутки проращивания

Облучение протонами в рассматриваемом диапазоне доз не влияет на уровень транскрипционной активности гена HORVU5HrIG125450 в корнях ячменя сорта Бадьорий, как и в случае гамма-облучения. Повышение экспрессии исследуемого гена в корнях сортов Витязь и Ладны происходит после облучения в дозах 25 и 50 Гр (рис. 34).

На 7-ые сутки проращивания транскрипционная активность гена, кодирующего PM19L, не меняется как при действии гамма-квантов, так и при облучении протонами в дозах до 15 Гр (в ростках) и до 25 Гр (в корнях).

Исследование влияния облучения тяжелыми ионами углерода на экспрессию гена, кодирующего мембранный белок PM19L, в зародышах ячменя представлено на рис. 35.

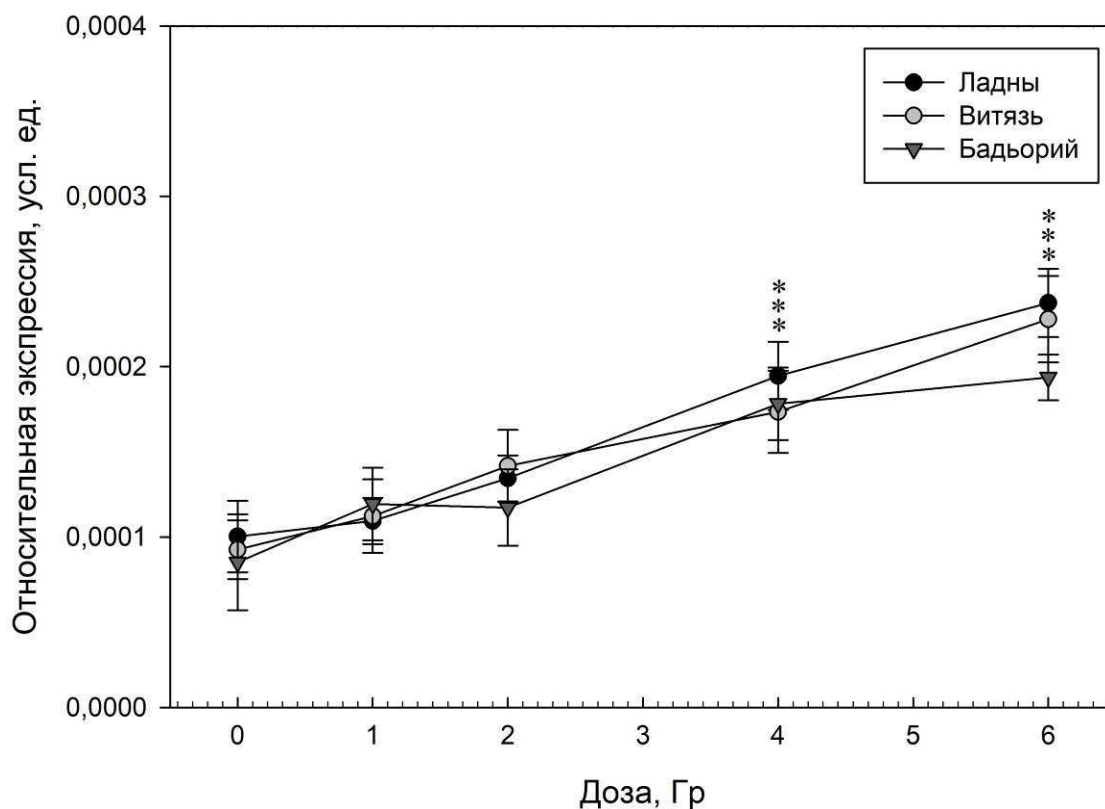


Рисунок 35 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5Hr1G125450, кодирующего мембранный белок PM19L в зародышах ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Можно отметить, что статистически значимое повышение относительной экспрессии исследуемого гена происходит при дозах облучения ионами ^{12}C 4 и 6 Гр.

Исследование влияния облучения тяжелыми ионами ^{12}C на активность гена HORVU5Hr1G125450 в ростках и корнях ячменя обыкновенного трех сортов на 7-ые сутки проращивания представлено на рисунках 36 и 37, соответственно.

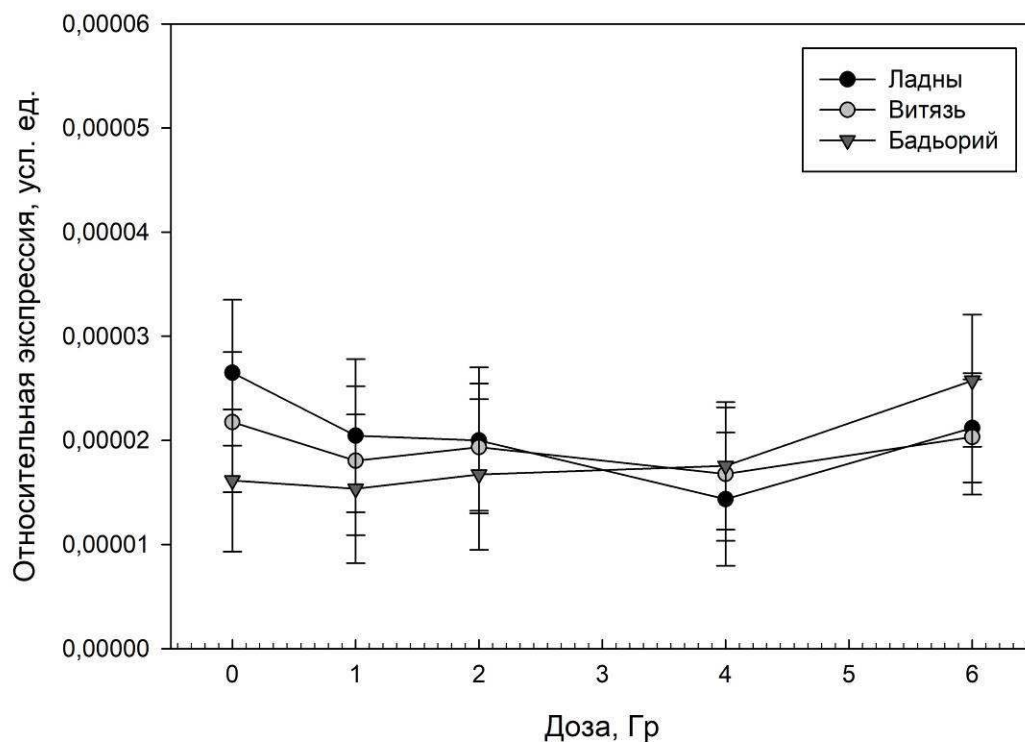


Рисунок 36 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5HrIG125450, кодирующего мембранный белок PM19L в ростках ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

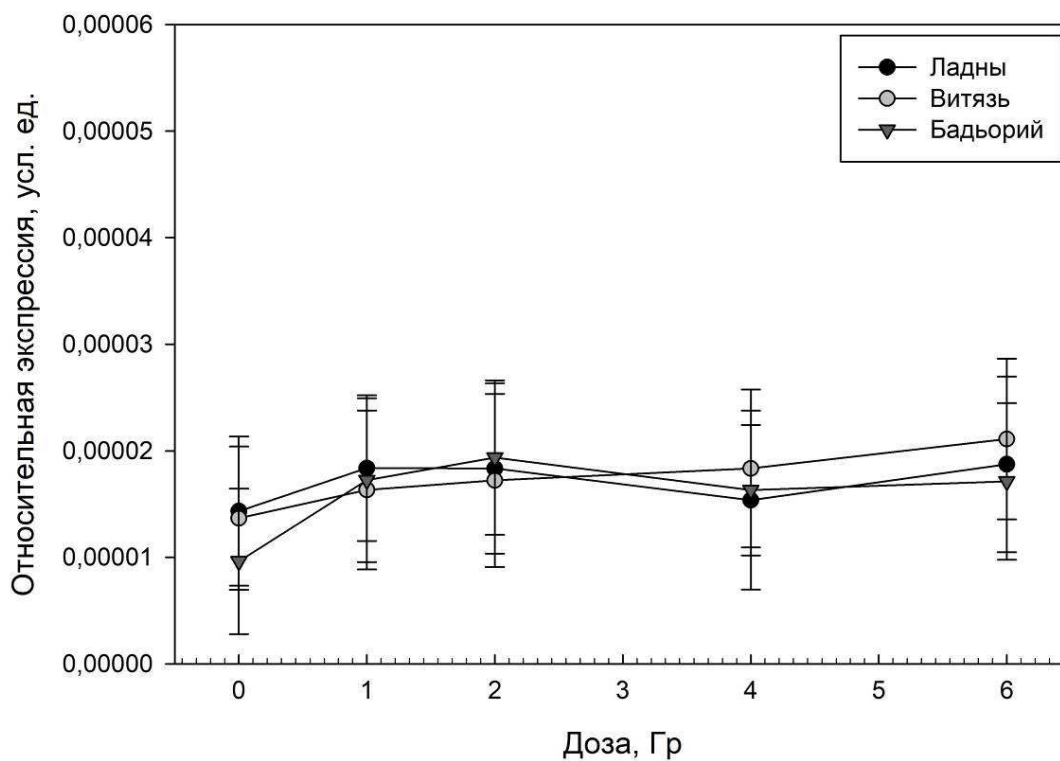


Рисунок 37 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU5HrIG125450, кодирующего мембранный белок PM19L в корнях ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0.05$

Как видно из полученных данных, изменения уровней относительной экспрессии гена, кодирующего белок PM19L, не происходит. На 1-ые сутки проращивания при облучении ионами углерода в дозах 4 и 6 Гр повышенная экспрессия гена, кодирующего рассматриваемый мембранный белок, может говорить о накоплении АБК на ранних этапах онтогенеза. Однако к 7-ым суткам проращивания не отмечено изменений в морфометрических показателях, т. е. не происходило задержки роста, и транскрипционная активность гена HORVU5Hr1G125450 статистически значимо не отличалась от контроля.

Таким образом, на 1-ые сутки проращивания повышенная экспрессия гена HORVU5Hr1G125450, кодирующего мембранный белок PM19L, наблюдалась после облучения гамма-квантами в дозах 15-50 Гр. Повышенная транскрипционная активность наблюдалась после облучения протонами во всем рассматриваемом диапазоне доз, за исключением дозы облучения 5 Гр у сорта Бадьорий. Облучение ионами углерода в дозах 4 и 6 Гр статистически значимо повышала уровень экспрессии гена, кодирующего белок PM19L. На 7-ые сутки проращивания повышенная экспрессия в ростках наблюдается у сорта Бадьорий после гамма-облучения и облучения протонами в дозах 15-50 Гр, у сортов Витязь и Ладны – только после гамма-облучения в дозе 50 Гр и облучения протонами в дозах 25 и 50 Гр. В корнях на 7-ые сутки проращивания уровень транскрипционной активности возрастал после облучения гамма-квантами и протонами в дозах 25 и 50 Гр у сортов Витязь и Ладны. Облучение ионами ^{12}C не показало зависимости доза-эффект.

Известно, что белок PM19L тесно связан с белками LEA19 и PARP3. Белки LEA отвечают за остановку роста растений, их накопление связано с реакцией на солевой стресс [115] и засуху [100]. Белок PARP3 (АДФ-рибозилтрансфераза) участвует в пути эксцизионной репарации оснований, катализируя полиАДФ-рибозилирование акцепторных белков, участвующих в архитектуре хроматина и метаболизме ДНК. Эта модификация следует за повреждениями ДНК и представляется обязательным шагом в пути обнаружения/сигнализации, ведущем к репарации разрывов нитей ДНК, регуляции апоптоза и поддержания геномной стабильности. Облучение семян риса пучками ионов углерода и неона, ускоренными до 135 МэВ/нуклон, показало повышенный уровень экспрессии генов OsPCNA и OsPARP3, которые являются одними из генов семейства PARP [153]. Поэтому наблюдаемый радиобиологический эффект можно объяснять не только посредством сигнализации, зависящей от абсцизовой кислоты, но и вовлечения в процесс «функциональных партнеров», что требует дальнейших исследований.

На рис. 38 представлены результаты исследования влияния гамма-излучения на уровень транскрипционной активности гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК-синтетазу, в зародышах ячменя на 1-ые сутки проращивания.

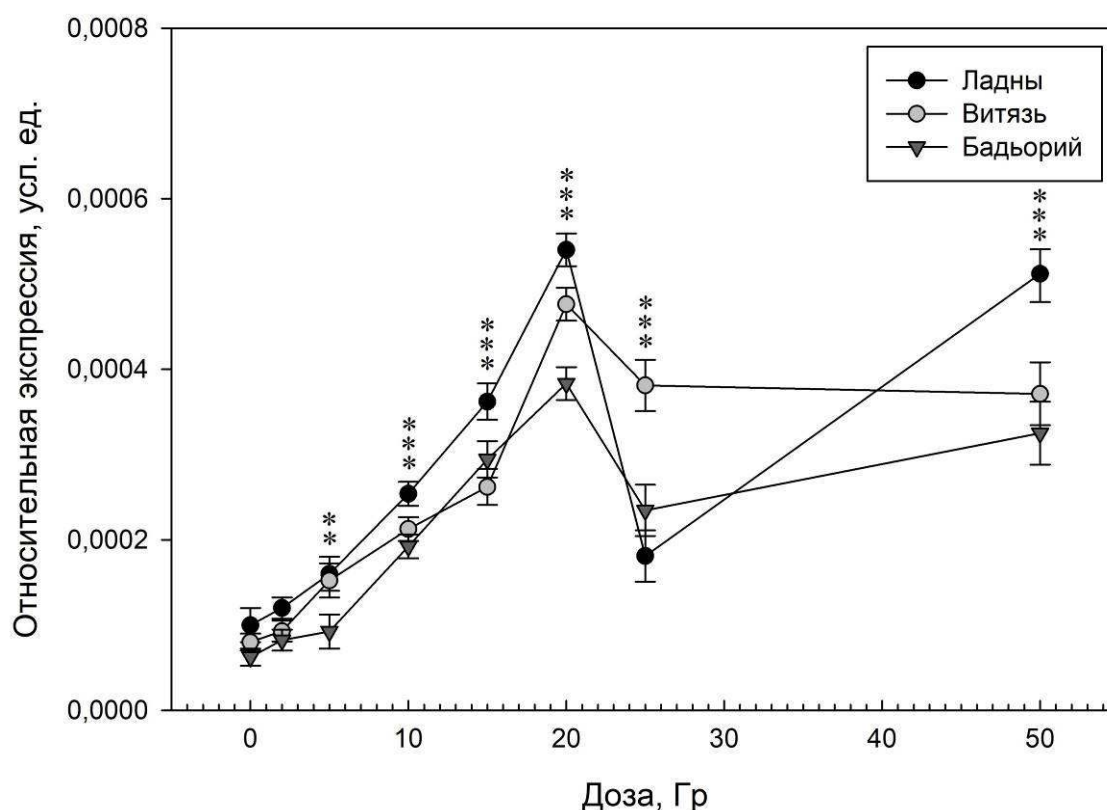


Рисунок 38 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в зародышах ячменя от дозы гамма-облучения на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Из рис. 38 видно, что изменение экспрессии гена HORVU2Hr1G057880 происходит при всех дозах гамма-облучения, за исключением дозы 2 Гр у сортов Витязь и Ладны, а также 2 и 5 Гр у сорта Бадьорий. Самая высокая относительная экспрессия зарегистрирована при гамма-облучении в дозе 20 Гр. Это говорит о том, что на 1-ые сутки проращивания у зародышей ячменя после гамма-облучения в дозах выше 5 Гр происходит усиленный синтез пролил-тРНК-синтетазы, необходимой для присоединения пролина к соответствующей тРНК.

В настоящем исследовании по влиянию гамма-облучения на экспрессию гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, на седьмые сутки проращивания в ростках ячменя транскрипционная активность статистически значимо усиливается при гамма-облучении в дозах 2, 5, 10, 25, 50 Гр у сортов Витязь и Ладны, и при облучении в дозах 2, 5, 50 Гр у сорта Бадьорий (рис. 39).

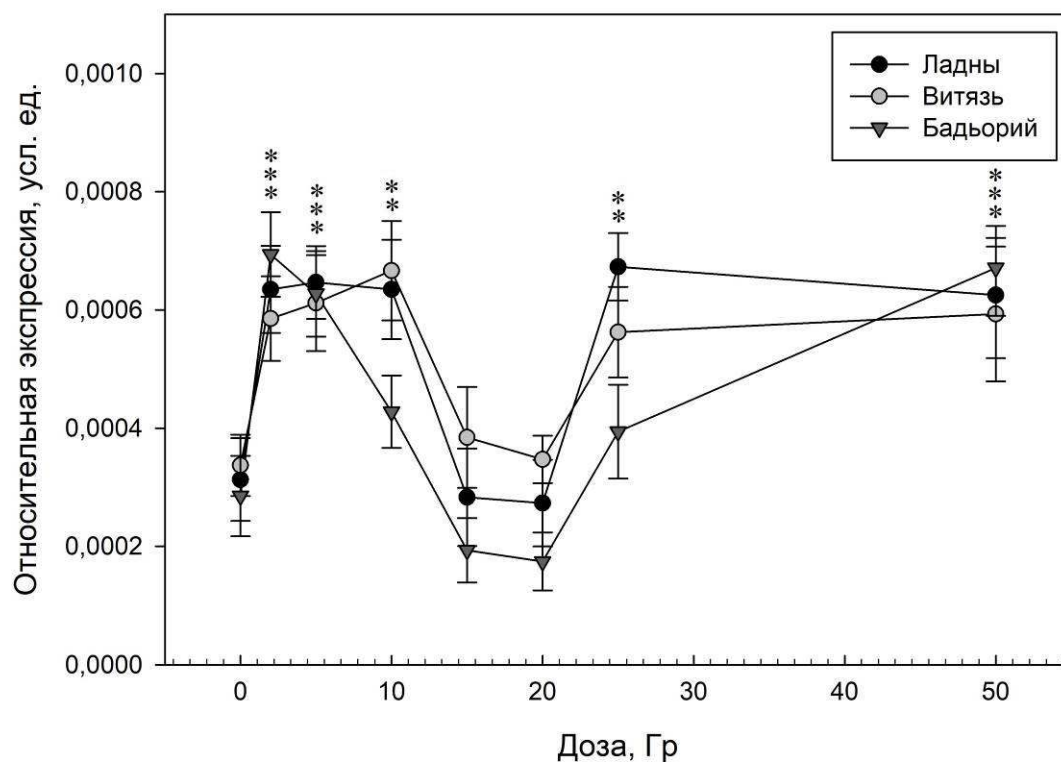


Рисунок 39 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в ростках ячменя от дозы гамма-облучения на 7 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

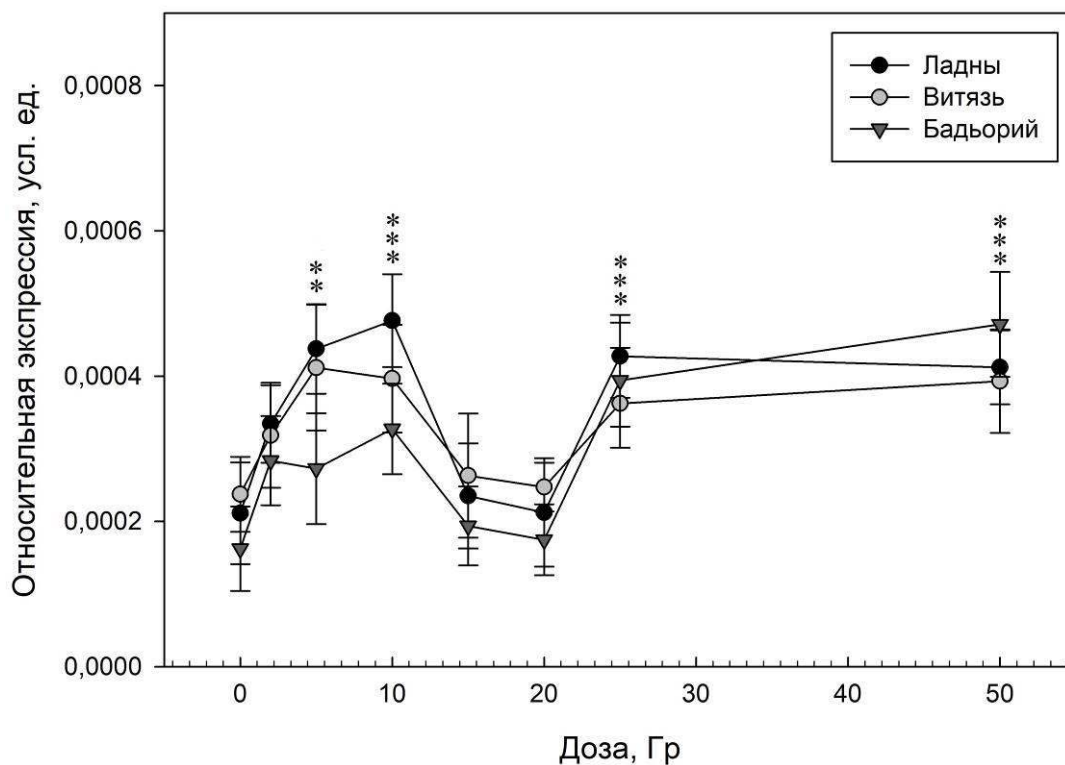


Рисунок 40 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в корнях ячменя от дозы гамма-облучения на 7 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Результаты исследования влияния гамма-облучения на транскрипционную активность гена HORVU2Hr1G057880 в корнях ячменя показывают, что относительная экспрессия гена, кодирующего пролил тРНК-синтетазу, выше после облучения в дозах 5, 10, 25 и 50 Гр у сортов Витязь и Ладны, у сорта Бадьорий – после воздействия гамма-квантами в дозах 10, 25 и 50 Гр (рис. 40).

В ходе экспериментальных исследований были выявлены статистически значимые различия в транскрипционной активности гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в зародышах ячменя в зависимости от дозы облучения протонами (рис. 41).

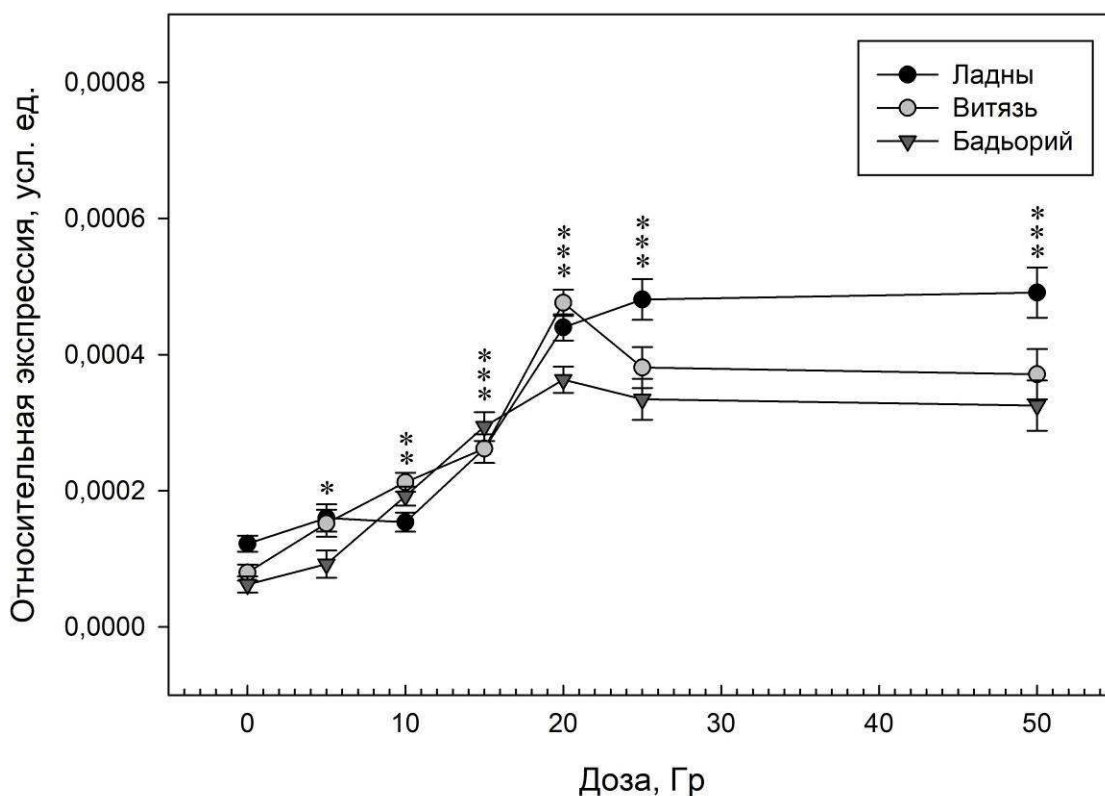


Рисунок 41 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в зародышах ячменя от дозы облучения протонами на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Из представленных зависимостей видно, что статистически значимое повышение экспрессии рассматриваемого гена в зародышах ячменя на первые сутки проращивания происходит при дозах облучения протонами 5, 10, 15, 20, 25 и 50 Гр для сорта Витязь, 10, 15, 20, 25 и 50 Гр – для сорта Бадьорий, 15, 20, 25 и 50 Гр – для сорта Ладны (рис. 41).

Влияние протонного облучения на транскрипционную активность гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в ростках ячменя трех сортов на 7-ые сутки проращивания представлено на рис. 42.

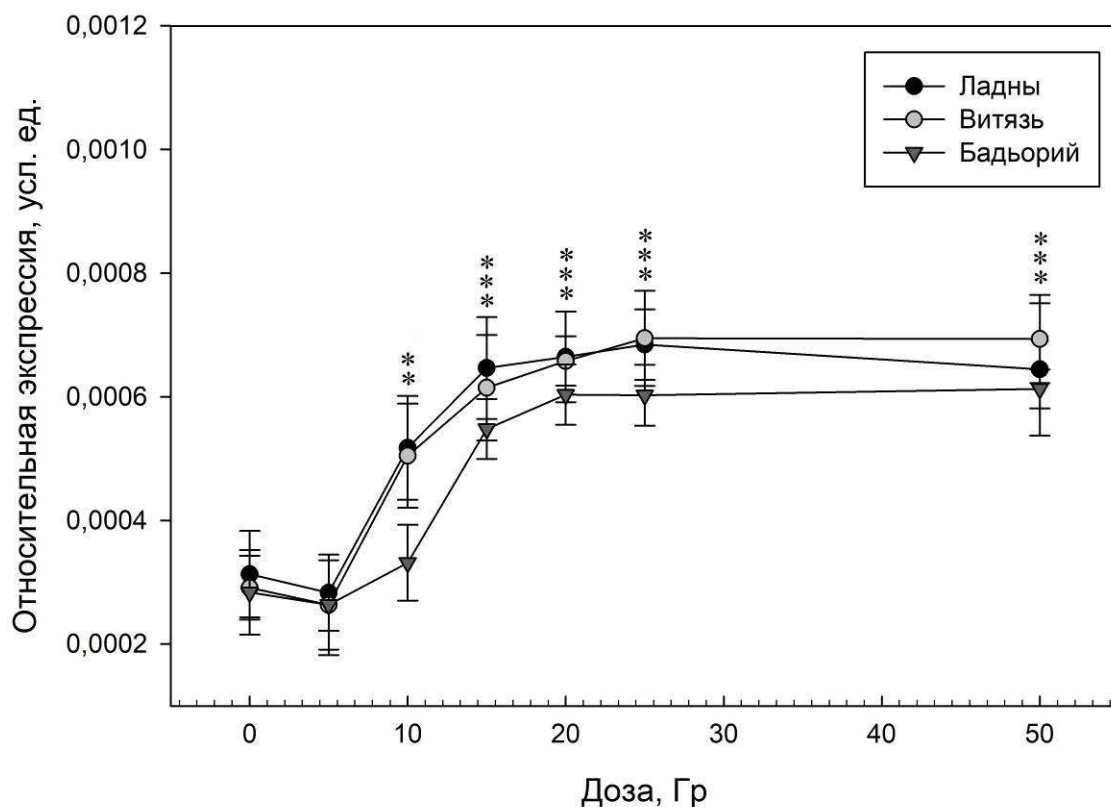


Рисунок 42 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в ростках ячменя от дозы облучения протонами на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

При протонном облучении в дозах 5 и 10 Гр не происходит достоверного изменения уровня транскрипционной активности данного гена в ростках ячменя у сорта Бадьорий, после облучении в дозе 5 Гр – у сортов Витязь и Ладны.

Результаты исследования влияния протонного облучения на транскрипционную активность гена HORVU2Hr1G057880 в корнях ячменя обыкновенного трех сортов на 7-ые сутки проращивания представлены на рис. 43.

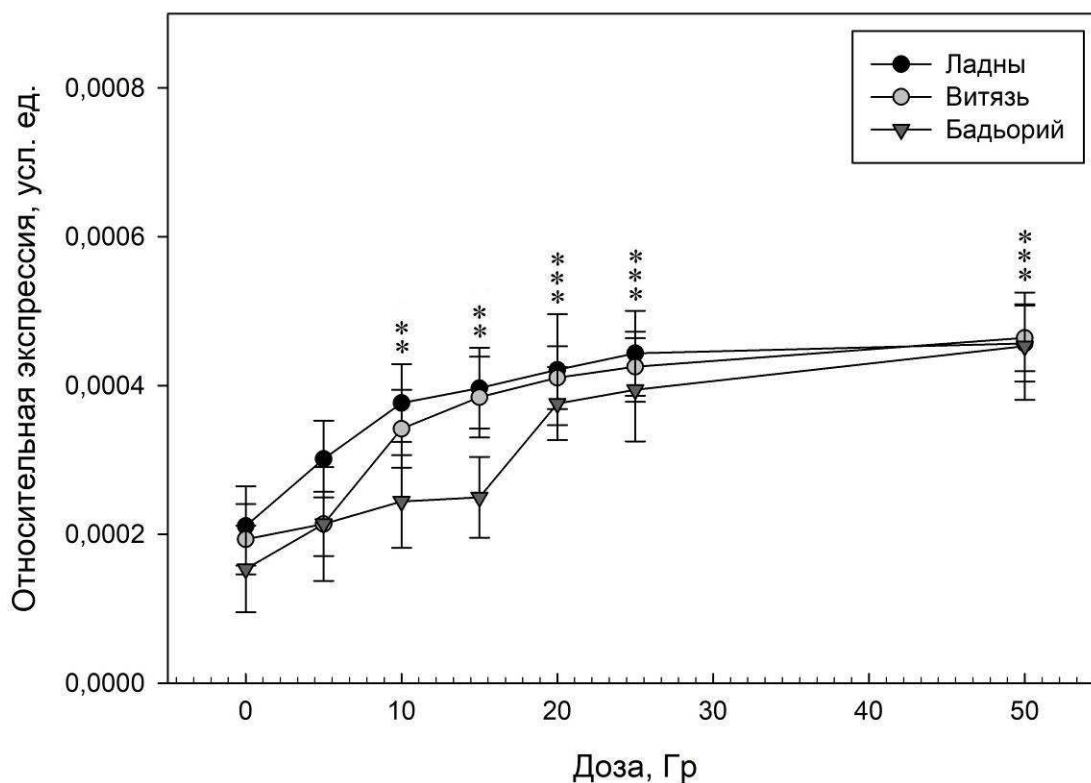


Рисунок 43 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в корнях ячменя от дозы облучения протонами на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Отмечено, что у сортов Витязь и Ладны увеличение экспрессии гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в корнях ячменя происходит при дозах облучения протонами 10 Гр и выше. У сорта Бадьорий – начиная с облучения в дозе 20 Гр. Как описано ранее, на 10-ые сутки происходит накопление свободного пролина после облучения протонами во всем изученном диапазоне доз у сортов Витязь и Ладны, а у сорта Бадьорий – после облучения в дозе 10 Гр и выше. Можно предположить, что к 10 суткам проращивания уровень транскрипционной активности рассматриваемого гена изменится и будет соответствовать показаниям содержания пролина.

На рисунках 44-46 показано влияние тяжелых ионов ^{12}C на транскрипционную активность исследуемого гена в зародышах ячменя, а также ростках и корнях в зависимости от дозы облучения.

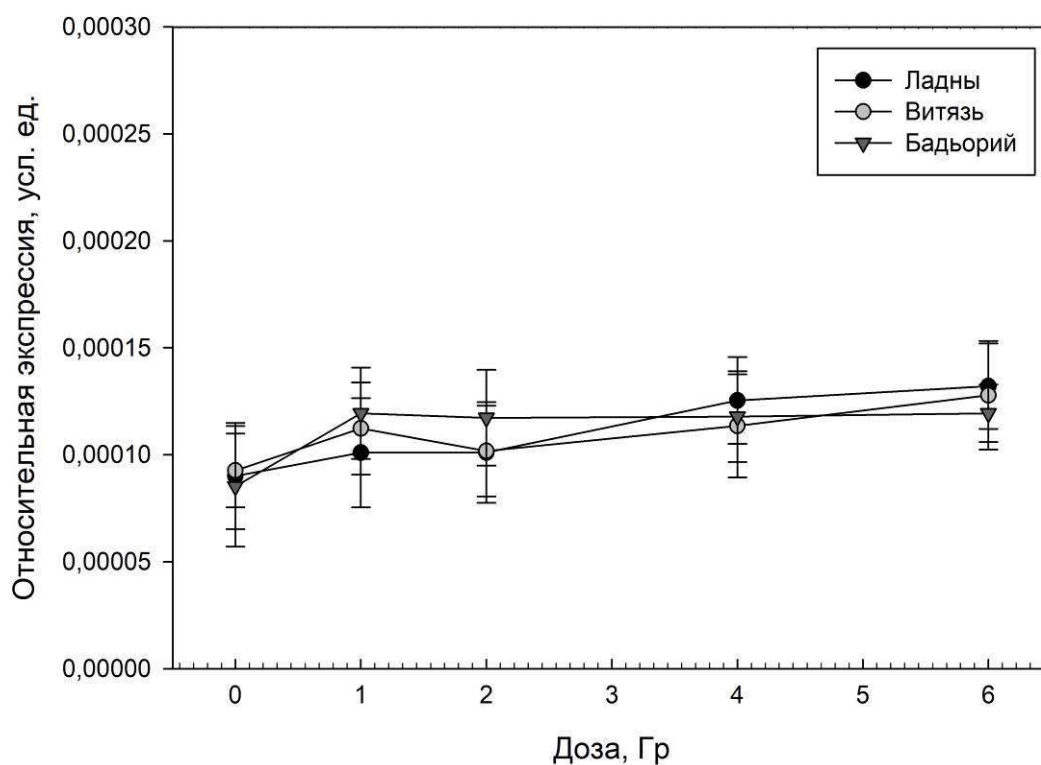


Рисунок 44 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в зародышах ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 1 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

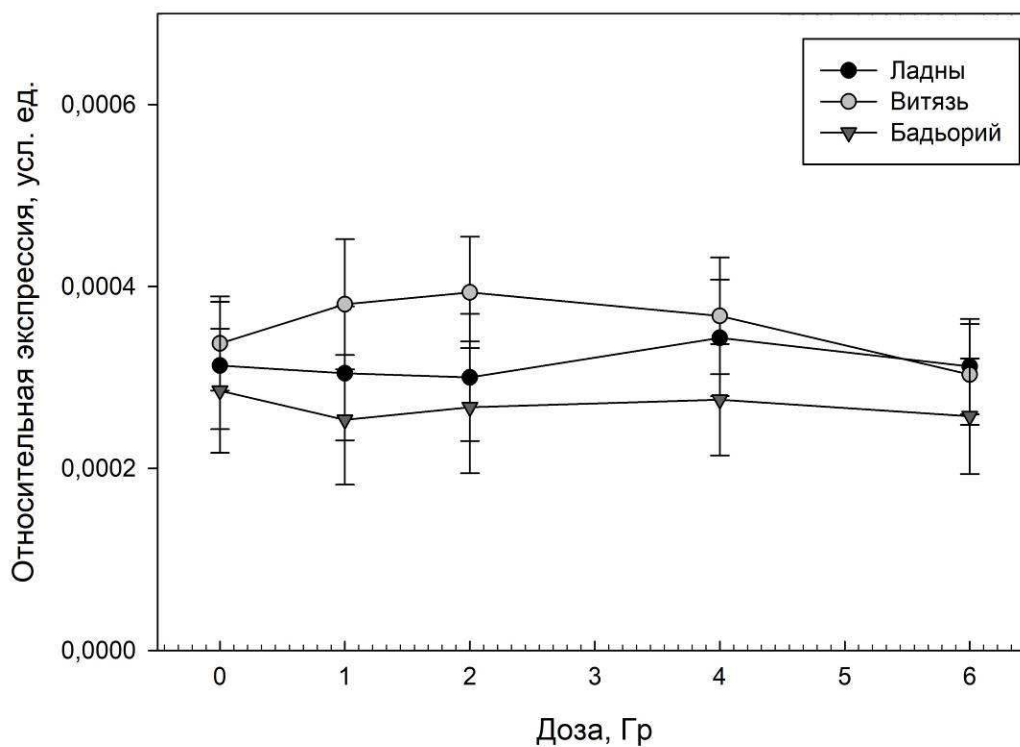


Рисунок 45 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в ростках ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

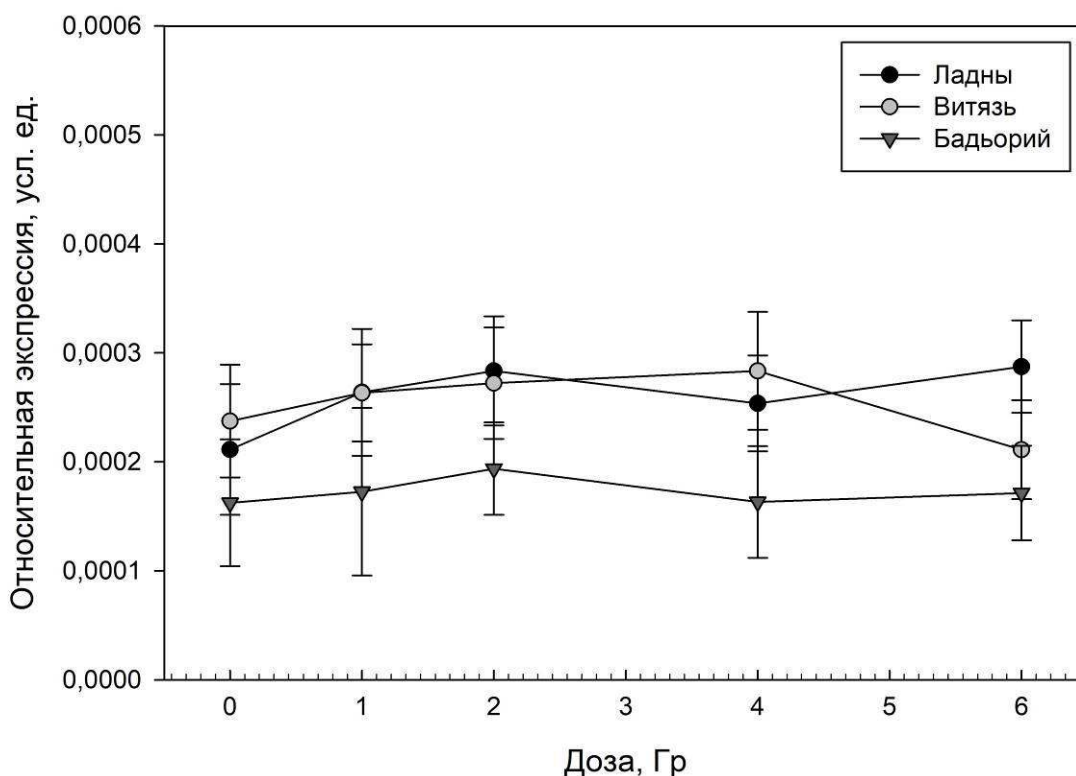


Рисунок 46 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G057880, кодирующего пролил-тРНК синтазу, в корнях ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

По результатам исследования выявлено, что относительная экспрессия гена HORVU2Hr1G057880 не меняется на 1-ые и на 7-ые сутки проращивания в зависимости от рассматриваемых доз облучения ионами углерода.

АСРазы, как говорилось ранее, осуществляют правильное назначение аминокислот их кодоном и, таким образом, по своей сути связаны с возникновением генетического кодирования. Эти ферменты связывают молекулы тРНК с их аминокислотным грузом и, следовательно, жизненно важны для биосинтеза белка [190]. На 1-ые сутки проращивания после облучения в стимулирующих дозах увеличивается транскрипционная активность рассматриваемого гена, а уже к 7-ым суткам относительная экспрессия не отличается от контрольного уровня. Интересно отметить, что уровень свободного пролина на 10-ые сутки проращивания после облучения имеет схожую картину с экспрессией гена, кодирующего пролил-тРНК синтазу на 7-ые сутки. Из проведенного исследования влияния редко- и плотноионизирующего излучения на транскрипционную активность гена, кодирующего пролил-тРНК синтазу, можно сделать вывод, что в ответ на гамма- и протонное облучение доступность клеточного пролина остается неизменной, за исключением дозы 5 Гр у трех сортов ячменя, и 5 и 10 Гр у сорта Бадьорий.

Таким образом, статистически достоверное повышение уровня экспрессии гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, наблюдалось после облучения гамма-квантами в дозах 5-50 Гр в зародышах ячменя сортов Витязь и Ладны, у сорта Бадьорий – 10-50 Гр. Повышение транскрипционной активности в зародышах ячменя наблюдалось после облучения протонами в дозах 5-50 Гр у сорта Витязь, в дозах 10-50 Гр у сорта Бадьорий, в дозах 15-50 Гр у сорта Ладны. На 7-ые сутки проращивания в ростках ячменя изменение уровней экспрессии гена наблюдалось после гамма-облучения во всем исследуемом диапазоне доз, за исключением 15 и 20 Гр для всех трех сортов и 10, 25 Гр для сорта Бадьорий. Как говорилось ранее, на 10-ые сутки в ростках ячменя, выросших из семян, облученных гамма-квантами в дозах 15 и 20 Гр не повышалась концентрация свободного пролина. Можно сделать вывод, что дозы гамма-облучения, стимулирующие рост и развитие растения, не вызывают повышение свободного пролина на этапе биосинтеза. В корнях гамма-облучение в дозах 5, 10, 25 и 50 Гр у сортов Витязь и Ладны, 10, 25 и 50 Гр – у сорта Бадьорий, вызвало повышение относительной экспрессии гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу. Облучение протонами в дозах 10-50 Гр у сортов Витязь и Ладны, в дозах 15-50 Гр у сорта Бадьорий повышали транскрипционную активность гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу. Нами было показано увеличение свободного пролина на 10-ые сутки проращивания при облучении протонами в дозах 5-50 Гр у сортов Витязь и Ладны, в дозах облучения 10-50 Гр у сорта Бадьорий. Возможно, к 10-ым суткам относительная экспрессия гена HORVU2Hr1G057880 будет выше после облучения в дозах 5 Гр для сортов Витязь и Ладны, а также 5 и 10 Гр для сорта Бадьорий. Облучение тяжелыми ионами ^{12}C не изменяло активность гена на 7-ые сутки проращивания в корнях и ростках ячменя трех сортов, что соотносится с нашими данными по содержанию свободного пролина на 10-ые сутки проращивания.

На 1-ые сутки жизни зародыш все еще продолжает свое питание через запас питательных веществ в семени и не вовлекается в процесс фотосинтеза. На 1-ые сутки не детектируется экспрессия гена, кодирующего белок светоулавливающего комплекса, несмотря на стрессовые условия от облучения.

На рис. 47 представлены данные изменения экспрессии гена HORVU2Hr1G040780, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCII типа III, после облучения гамма-квантами в ростках на 7-ые сутки проращивания.

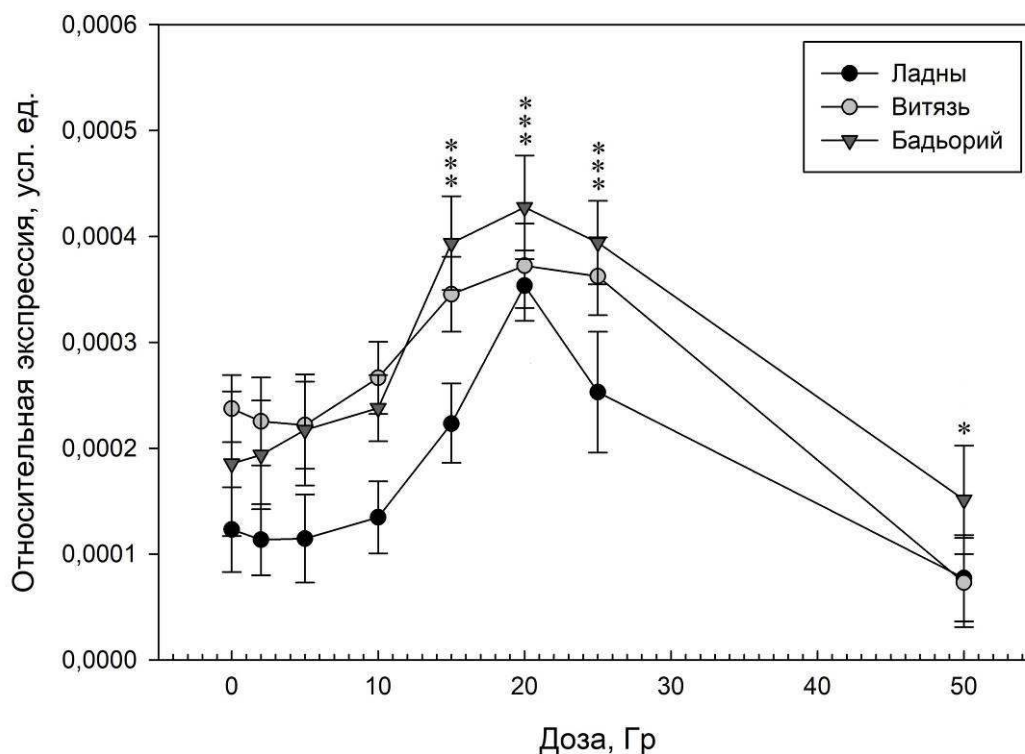


Рисунок 47 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G040780, кодирующего хлорофилл аб-связывающий белок LHCII типа III, в ростках ячменя от дозы гамма-облучения на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Показано, что на 7-ые сутки повышается экспрессия гена, кодирующего хлорофилл аб-связывающий белок LHCII типа III после гамма-облучения в дозах 15, 20 и 25 Гр для всех рассматриваемых сортов. Облучение гамма-квантами в дозе 50 Гр привело к понижению транскрипционной активности рассматриваемого гена в ростках у сорта Витязь. В зеленых ростках должен протекать интенсивный процесс фотосинтеза, чему в том числе способствует повышенное количество светоулавливающих белков LHC, который также позволяет сбалансировать поток энергии между ФС посредством фосфорилирования и дефосфорилирования. Усиление экспрессии гена HORVU2Hr1G040780 после облучения гамма-квантами может говорить о том, что повышение содержания фотосинтетических пигментов связано с увеличением количества LHC белков.

На рис. 48 представлены данные изменения экспрессии гена, кодирующего хлорофилл аб-связывающий белок LHCII типа III, после облучения протонами в ростках на 7-ые сутки.

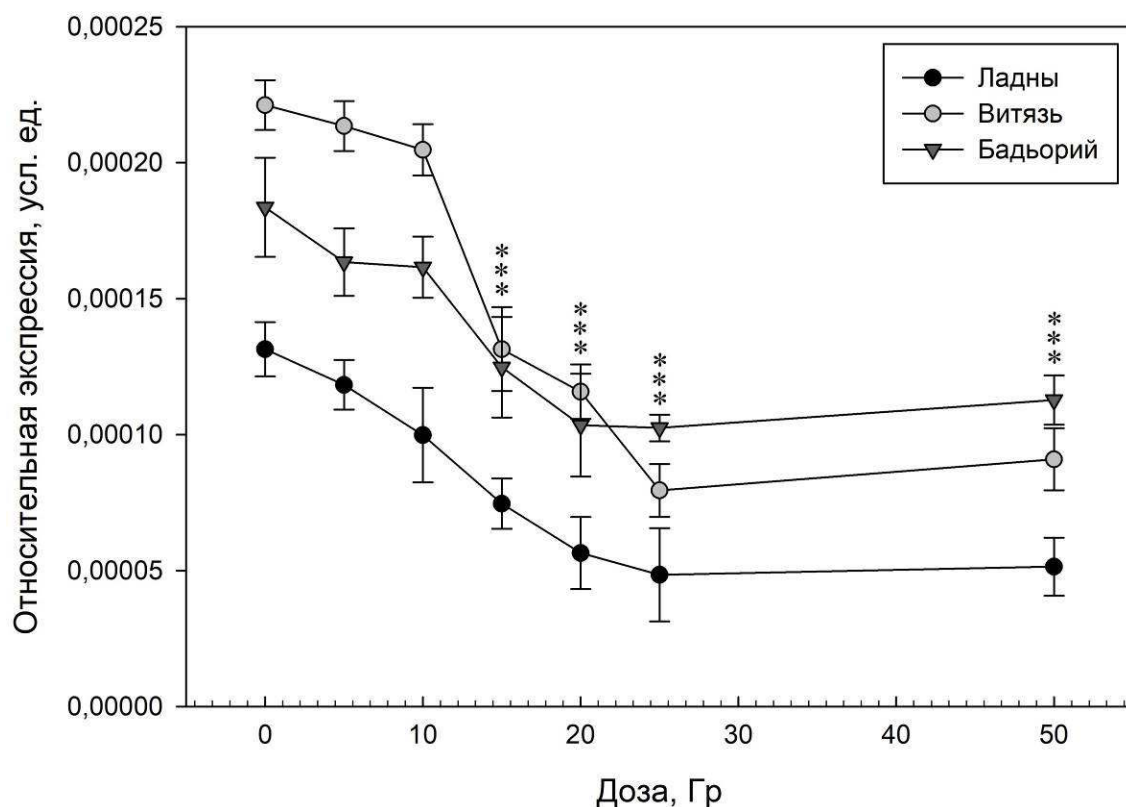


Рисунок 48 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G040780, кодирующего хлорофилл а_b-связывающий белок LHCII типа III, в ростках ячменя от дозы облучения протонами на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Из данных, представленных на рис. 48, выявлено, что облучение протонами в дозах 15-50 Гр статистически значимо снижают транскрипционную активность исследуемого гена для всех трех сортов ячменя.

На рис. 49 представлена зависимость экспрессии гена, кодирующего хлорофилл а_b-связывающий белок LHCII типа III от дозы облучения тяжелыми ионами ^{12}C на 7-ые сутки проращивания.

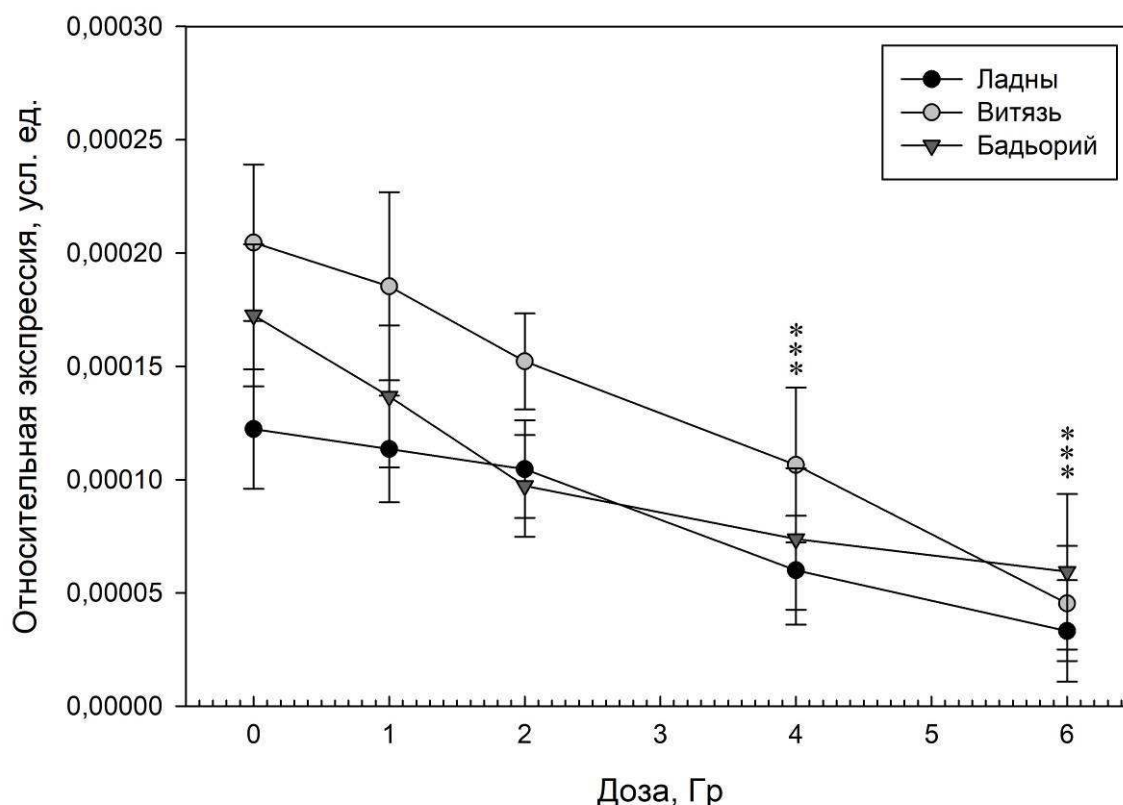


Рисунок 49 – Зависимость относительной экспрессии гена HORVU2Hr1G040780, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCII типа III, в ростках ячменя от дозы облучения ионами ^{12}C на 7 сутки проращивания

* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0,05$

Из представленных зависимостей видно снижение транскрипционной активности гена HORVU2Hr1G040780 после облучения ионами ^{12}C в дозах 4 и 6 Гр (рис.49).

N-конец данного белка простирается в строму, где он участвует в адгезии мембран гран и посттрансляционных модификациях. Считается, что оба эти процесса опосредуют распределение энергии возбуждения между ФС I и II. Известно, что экспрессия генов, кодирующих различные белки хлоропластов, может регулироваться по принципу обратной связи уровнем хлорофиллов или предшественников хлорофиллов [97]. Редокс-состояние хлоропластов, вызванное ионизирующим излучением, индуцирует ретроградные сигналы, поступающие из хлоропластов в ядро клетки, изменяя экспрессию генов белков LHC [94]. Как было показано ранее, концентрации хлорофиллов *a* и *b*, а также каротиноидов у проростков повышались после облучения гамма-квантами в дозах 15 и 20 Гр. Можно предположить, что увеличение фотосинтетических пигментов после гамма-облучения в диапазоне стимулирующих доз связано с усилением экспрессии гена HORVU2Hr1G040780, и повышением уровня хлорофилл *ab*-связывающих белков LHCII типа III. Снижение концентраций пигментов после действия протонного излучения происходит после облучения в дозах 5-10 Гр и выше, а

снижение транскрипционной активности рассматриваемого гена происходит после облучения в дозе 15 Гр и выше. Наблюдается снижение содержания фотосинтетических пигментов при всех исследуемых дозах, в то время как снижение экспрессии гена HORVU2Hr1G040780 фиксируется при дозах 4 и 6 Гр. Также отмечено, что под воздействием плотноионизирующего излучения уменьшение концентрации пигментов происходит при более низких дозах, чем снижение транскрипционной активности гена, кодирующего пролил-тРНК-синтетазу. Объяснение данного феномена возможно за счет разрушения молекул хлорофилла и/или нарушения его скорости синтеза и катаболизма, ведь одним из существенных аспектов влияния ионизирующего излучения на жизнедеятельность растений являются изменения в процессах биосинтеза. Гамма-излучение в дозе 50 Гр у сорта Ладны, облучение протонами в дозах 15 Гр и выше, облучение ионами углерода в дозах 4 и 6 Гр нарушают работу ФС II, за счет снижения экспрессии гена, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCII типа III.

В результате, повышение экспрессии гена, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCII типа III, на 7-ые сутки проращивания в ростках ячменя трех сортов отмечено после облучения гамма-квантами в дозах 15, 20, 25 Гр. Снижение транскрипционной активности у сорта Витязь отмечено после гамма-облучения в дозе 50 Гр. Плотноионизирующее излучение снижало активность гена: облучение протонами – начиная с дозы облучения 15 Гр, облучение ионами ^{12}C – в дозах 4 и 6 Гр.

Таким образом, проведенное исследование показало эффект стимуляции после облучения гамма-квантами в дозах 15 и 20 Гр, которое выражалось в усилении роста и фотосинтетической активности ячменя трех сортов. Плотноионизирующее излучение, представленное протонами и ионами ^{12}C , приводило к угнетению исследуемых показателей ячменя обыкновенного. Однако следует отметить, что облучение тяжелыми ионами углерода не всегда оказывало выраженный радиобиологический эффект, например, по морфометрическим показателям, содержанию пролина и митотической активности корневой меристемы. По нашим предположениям, облучение ионами углерода на этапе семени в большинстве случаев приводило к летальным повреждениям в клетках, которые погибали на самых ранних этапах онтегенеза (до вступления в первый митоз), из-за чего эффекта по некоторым исследуемым показателям выявлено не было.

Полученные данные, основанные на междисциплинарном подходе, могут быть полезны для расшифровки механизмов стрессовых реакций у растений, а также для получения новых стрессоустойчивых сортов сельскохозяйственных культур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В процессе эволюции растения развили сложные механизмы защиты, которые играют ключевую роль в выживании в условиях, подверженных постоянным изменениям. Эти механизмы необходимы для адаптации к различным стрессовым факторам, таким как изменения температуры, влажности, засоленности, и, в частности, ионизирующему излучению. Важно отметить, что для каждого конкретного стрессора не существует единого, универсального сигнального пути. Вместо этого растения обладают сложной, многофакторной и взаимосвязанной сетью сигнальных путей, посредством которых взаимодействуют друг с другом.

Формирование лучевого поражения в многоклеточном организме затрагивает все уровни его структурно-функциональной организации – от молекулярного до организменного. Это делает расшифровку механизмов адаптивных реакций особенно сложной задачей. Для глубокого понимания этих процессов необходим всесторонний подход, который включает в себя методологии различных биологических дисциплин, таких как молекулярная биология, генетика, физиология растений и других.

Настоящее исследование охватывает все уровни организации и выстраивает цепочку взаимосвязанных эффектов в ответ на действие ионизирующего излучения. В случае редкоионизирующего излучения показан эффект гормезиса, который главным образом зависит от дозы и мощности дозы. Показано, что стимулирующее действие гамма-облучения в дозах 15 и 20 Гр проявляется в увеличении длины главного корня и ростка на 7-ые сутки проращивания у ячменя трех сортов, которое идет не за счет усиления деления клеток, а за счет изменения метаболизма, регуляции экспрессии генов и в клеточных сигнальных путях. Так, на 1-ые сутки проращивания усиливается синтез мембранного белка РМ19L, ответственного за сигналинг АБК. Стимулирующее действие гамма-излучения проявляется также в увеличении содержания фотосинтезирующих пигментов, что связано с усилением экспрессии гена, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCII типа III. Однако, редокс-состояние хлоропластов, вызванное ионизирующим излучением, индуцирует сигналы по принципу обратной связи, изменяя экспрессию генов белков LHC. Накопление пролина и МДА на 10-ые сутки после облучения гамма-квантами в дозах 15-20 Гр не происходит, однако, на 1-ые сутки проращивания активно синтезируется пролил-тРНК синтетаза, необходимая для присоединения пролина к тРНК, что говорит о накоплении пролина на стадии зародыша. Несмотря на то, что стимулирующее действие редкоионизирующего излучения усиливает рост и развитие ячменя обыкновенного, показано, что в корневой меристеме образуются дозозависимые частоты

цитогенетических нарушений, представленные в основном отставаниями хромосом, одиночными фрагментами и мостами. При дозе гамма-облучения 50 Гр большая часть клеток имела «слипшиеся» хромосомы, которые нельзя было отнести к какой-либо фазе митоза или определить как тип цитогенетического нарушения.

Облучение протонами приводило к уменьшению длины ростка и главного корня, снижению количества фотосинтетических пигментов, митотической активности в корневой меристеме, транскрипционной активности гена, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCII типа III, и накоплению свободного пролина, цитогенетических нарушений, усилению экспрессии генов, кодирующих PM19L, пролил tРНК синтазу.

Облучение ионами углерода не оказывало эффекта на организменном уровне, но снижало уровни фотосинтетических пигментов. Облучение ионами ^{12}C в дозах 4 и 6 Гр увеличивало частоты цитогенетических нарушений, экспрессию гена, кодирующей мембранный белок PM19L на 1-ые сутки проращивания, усиливало транскрипционную активность гена, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCII типа III.

Важным аспектом является то, что существуют сортовые отличия в радиочувствительности, которые обуславливаются генетической изменчивостью и/или различиях в сигнальных путях. Стоит отметить, что ответ на ионизирующее излучение также зависит от чувствительности исследуемых показателей. Наиболее чувствительным показателем к действию ионизирующих излучений является содержание фотосинтетических пигментов.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что гамма-облучение в дозах 15 и 20 Гр статистически значимо повышает длину ростка и главного корня у трех исследуемых сортов ячменя. Гамма-облучение в дозе 50 Гр снижает длину проростка и главного корня. Облучение протонами в дозе 15 Гр и выше снижает длину ростка, облучение протонами в дозах 10 Гр и выше снижает длину главного корня у сортов Витязь и Ладны, у сорта Бадьорий – после облучения в дозах 15 Гр и выше. Облучение ионами ^{12}C в диапазоне доз 1-6 Гр не приводит к изменению морфологических показателей у ячменя обыкновенного трех сортов.
2. Эффект стимуляции у гамма-облученных семян ячменя обыкновенного по содержанию хлорофилла а и b, а также каротиноидов обнаружен при облучении в дозах 15 Гр у трех сортов и в дозе 20 Гр у сортов Ладны и Бадьорий. После облучения протонами снижение содержания хлорофилла а происходило в дозе 10 Гр и выше во всех изученных сортах ячменя, снижение уровней хлорофилла b и каротиноидов наблюдалось во всех исследуемых дозах у сортов Витязь и Ладны, а у сорта Бадьорий после облучения протонами в дозе 10 Гр и выше. После облучения тяжелыми ионами ^{12}C уменьшение содержания фотосинтетических пигментов в ростках ячменя обыкновенного трех сортов происходит во всем рассматриваемом диапазоне доз.
3. Показано, что при гамма-облучении семян в изученном диапазоне доз, у проростков происходит значимое повышение содержание свободного пролина, за исключением доз 15 и 20 Гр. При облучении протонами в дозах 5-50 Гр выявлено повышение содержания свободного пролина у сортов Витязь и Ладны, у сорта Бадьорий – начиная с дозы облучения 10 Гр. Изменений в концентрации свободного пролина у проростков ячменя трех сортов после облучения ионами ^{12}C в дозах 1-6 Гр не выявлено.
4. У проростков *Hordeum vulgare* L. значимое повышение уровня МДА происходит при гамма-облучении в дозах 2, 5, 10, 25 и 50 Гр. При влиянии плотноионизирующего излучения содержание МДА не изменяется в изученном диапазоне доз.
5. Гамма-облучение семян в дозах 2, 5, 10, 15, 20 и 25 Гр не приводит к изменению МИ в корневой меристеме пророщенных семян ячменя обыкновенного трех сортов, гамма-облучение в дозе 50 Гр снижает митотический индекс в 2,5 раза. Протонное облучение снижает МИ при дозах облучения 10, 15, 20, 25 и 50 Гр. Облучение ионами углерода в дозах 1-6 Гр не изменяет МИ.
6. Показано увеличение частоты клеток с цитогенетическими нарушениями после гамма- и протонного облучения, за исключением дозы гамма-облучения 2 и 5 Гр. Повышение частоты

клеток с цитогенетическими нарушениями зарегистрировано при облучении ионами ^{12}C в дозах 4 и 6 Гр. При влиянии редко- и плотноионизирующего излучения ведущую роль в генотоксическом эффекте играли отставания хромосом, одиночные фрагменты и мосты.

7. Повышение транскрипционной активности гена, кодирующего мембранный белок PM19L, на 1-ые сутки проращивания происходит после гамма-облучения в дозах 15-50 Гр, после облучения протонами в дозах 5-50 Гр у сортов Витязь и Ладны, у сорта Бадьорий – 10-50 Гр, после облучения ионами ^{12}C в дозах 4 и 6 Гр. На 7-ые сутки проращивания в ростках ячменя экспрессия гена, кодирующего PM19L, повышается после гамма-облучения и облучения протонами в дозах 15-50 Гр у сорта Бадьорий, у сортов Витязь и Ладны – после облучения протонами в дозах 25 и 50 Гр, после облучения гамма-квантами в дозе 50 Гр. Облучение ионами ^{12}C в дозах 1-6 Гр не изменяло экспрессию гена, кодирующего мембранный белок PM19L, в корнях и ростках на 7-ые сутки проращивания.
8. Достоверное усиление экспрессии гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, происходило после облучения гамма-квантами в дозах 5-50 Гр в зародышах ячменя сортов Витязь и Ладны, у сорта Бадьорий – 10-50 Гр, после облучения протонами в дозах 5-50 Гр у сорта Витязь, в дозах 10-50 Гр у сорта Бадьорий, в дозах 15-50 Гр у сорта Ладны. В ростках ячменя изменение уровней экспрессии гена наблюдалось после гамма-облучения во всем исследуемом диапазоне доз, за исключением 15 и 20 Гр для всех трех сортов и 10, 25 Гр для сорта Бадьорий, после облучения протонами в дозах 10-50 Гр у сортов Витязь и Ладны, в дозах 15-50 Гр у сорта Бадьорий. В корнях гамма-облучение в дозах 5, 10, 25 и 50 Гр у сортов Витязь и Ладны, 10, 25 и 50 Гр – у сорта Бадьорий, вызвало повышение относительной экспрессии гена, кодирующего пролил-тРНК синтетазу. Облучение тяжелыми ионами ^{12}C не изменяло активность гена на 7-ые сутки проращивания в корнях и ростках ячменя трех сортов.
9. Повышение экспрессии гена, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок LHCP типа III, в ростках ячменя трех сортов отмечено после облучения гамма-квантами в дозах 15, 20, 25 Гр. Снижение транскрипционной активности у сорта Витязь отмечено после гамма-облучения в дозе 50 Гр. Плотноионизирующее излучение снижало активность гена: облучение протонами – начиная с дозы облучения 15 Гр, облучение ионами ^{12}C – в дозах 4 и 6 Гр.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алехина, Н. Д. Физиология растений : учебник / Н. Д. Алехина, Ю. В. Балнокин, В. Ф. Гавриленко – Москва : Академия, 2005. – С. 580-581.
2. Аллахвердиев, С. И. Фотосинтез: открытые вопросы и что мы знаем сегодня : учебник / С. И. Аллахвердиев, А. Б. Рубин, В. А. Шувалов. – Москва : Ижевский институт компьютерных исследований, 2013. – 825 с.
3. Анализ динамики посевных площадей и урожайности ячменя в российской федерации / Н. В. Репко, А. Е. Шуликин, Е. В. Белокур [и др.] // Научный журнал КубГАУ. – 2023. – № 192. – С. 2-16.
4. Анализ митотической активности в корневой меристеме проростков γ -облучённых семян ячменя / П. Ю. Волкова, Р. С. Чурюкин, Е. А. Казакова [и др.] // Актуальные вопросы сельскохозяйственной радиобиологии : Труды ФГБНУ ВНИИРАЭ / Под редакцией С. А. Гераськина. – Обнинск : Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», 2019. – Том Выпуск 2. – С. 46-50.
5. Астахина, С. О. Изменение содержания фотосинтетических пигментов у ячменя посевного *Hordeum sativum* после гамма-облучения / С. О. Астахина, М. М. Рассказова // Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии : сборник докладов международной молодежной конференции, Обнинск, 03-04 октября 2019 года. – Обнинск: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», 2019. – С. 19-21.
6. Астахина, С. О. Количественное изменение малонового диальдегида в проростках *Hordeum sativum* после гамма-облучения / С. О. Астахина, Л. Н. Комарова, А. А. Афонин // Ильинские чтения 2022 : Сборник материалов школы-конференции молодых учёных и специалистов, Москва, 06-07 октября 2022 года. – Москва : Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна, 2022. – С. 75-77.
7. Афолина, С. О. Влияние гамма-излучения на содержание свободного пролина и малонового диальдегида в проростках ячменя обыкновенного / С. О. Афолина, Л. Н. Комарова, М. М. Рассказова // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2024. – Т. 33, № 2. – С. 98-105.

8. Афонина, С. О. Исследование влияния гамма-облучения на морфологические и генетические показатели ячменя обыкновенного / С. О. Афонина, Г. А. Атамановская, Л. Н. Комарова // Известия высших учебных заведений. Ядерная энергетика. – 2024. – № 3. – С. 166-174.
9. Афонина, С. О. Оценка радиобиологических эффектов γ -облучения семян ячменя обыкновенного *Hordeum vulgare* L. / С. О. Афонина, Л. Н. Комарова, М. М. Рассказова // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2024. – Т. 64, № 1. – С. 49-55.
10. Бабаян, Р. С. Проращивание семян в рулонах из фильтровальной бумаги и полиэтиленовой пленки / Р. С. Бабаян // Сельскохозяйственная биология. – 1981. – № 3. – С. 473-475.
11. Батыгин, Н. Ф. Использование ионизирующей радиации при управлении жизнедеятельностью растений : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук (090) / Батыгин Николай Федорович ; Всесоюзная академия сельскохозяйственных наук им. В. И. Ленина. Всесоюзный научно-исследовательский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова. – Ленинград : [б. и.], 1968. – 53 с.
12. Белов, А. А. Радиобиология : учебник / А. А. Белов, В. А. Киршин, Н. П. Лысенко. – Москва : Колос, 1999. – 384 с.
13. Бимодальное изменение всхожести семян гороха под влиянием гамма-излучения в малых дозах / В. А. Веселовский, Т. В. Веселова, В. Л. Корогодина [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2006. – Т. 46, № 6. – С. 691-696.
14. Битаришвили, С. В. Влияние гамма-облучения семян ячменя на содержание фитогормонов в динамике прорастания / С. В. Битаришвили, П. Ю. Волкова, С. А. Гераськин // Физиология растений. – 2018. – Т. 65, № 3. – С. 223-232.
15. Битаришвили, С. В. Экспрессия генов биосинтеза и катаболизма гиббереллинов в зародышах семян ячменя, подвергшихся воздействию γ -излучения / С. В. Битаришвили, В. С. Бондаренко, С. А. Гераськин // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2019. – Т. 59, № 3. – С. 286-292.
16. Битаришвили, С. В. Экспрессия генов метаболизма фитогормонов в семенах ячменя после γ -облучения / С. В. Битаришвили // Современные вопросы радиационной генетики. – Дубна : ОИЯИ, 2019. – С. 25-27.
17. Бобков, А. А. Влияние агрофона на углеводно-амилазный комплекс пивоваренного ячменя : специальность 03.00.04 «Биохимия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук / Бобков Александр Анатольевич ; ГОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств». – Москва, 2008. – 134 с.

18. Болсуновский, А. Я. Влияние гамма-излучения в малых дозах на развитие растений из облученных проростков *Pisum sativum* в лабораторных экспериментах / А. Я. Болсуновский, Е. А. Трофимова, О. П. Орешникова // Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University). – 2024. – V. 72. – С. 13-21.
19. Бреславец, Л. П. Растение и лучи Рентгена / Л. П. Бреславец. – Москва; Ленинград : Издательство АН СССР, 1946. – 194 с.
20. Бычкова, Т. М. Радиобиологические эффекты протонов, модифицированные средствами физической и фармакологической защиты : специальность 14.03.08 «Авиационная, космическая и морская медицина», 03.01.01 «Радиобиология» : диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Бычкова Таисия Михайловна ; Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем Российской академии наук. – Москва, 2021. – 134 с.
21. Васильев, И. М. Действие ионизирующих излучений на растения / И. М. Васильев. – Москва : Издательство АН СССР, 1962. – 224 с.
22. Влияние внутриутробного гамма-облучения на функциональные свойства аденилатциклазы печени крыс / Е. Ф. Конопля, Ю. И. Рогов, М. В. Шолух [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1998. – № 2. – С. 145-150.
23. Волкова, П. Ю. Адаптивные реакции растений на действие ионизирующего излучения в низких дозах : специальность 03.01.01 «Радиобиология», 03.02.07 «Генетика» ; диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Полина Юрьевна Волкова ; Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии». – Обнинск, 2020. – 390 с.
24. Гарифзянов, А. Р. Образование и физиологические реакции активных форм кислорода в клетках растений / А. Р. Гарифзянов, Н. Н. Жуков, В. В. Иванищев // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 2. – С. 13-21.
25. Генетические закономерности селекции ярового ячменя : научное издание / М. Р. Козаченко, О. Е. Важенина, О. Г. Наумов [и др.]. – Харьков : Институт растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН Украины, 2016. – 458 с.
26. Гераськин, С. А. Закономерности формирования цитогенетических эффектов малых доз ионизирующего излучения : специальность 03.00.01 «Радиобиология» : диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Гераськин Станислав

- Алексеевич ; Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии и агроэкологии РАСХН. – Обнинск, 1998. – 204 с.
27. Горбатова, И. В. Изучение экспрессии генов белков позднего эмбриогенеза в зародышах ячменя после воздействия ионизирующего излучения на семена / И. В. Горбатова, П. Ю. Волкова // Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии : сборник докладов международной молодежной конференции, Обнинск, 03-04 октября 2019 года. – Обнинск: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии», 2019. – С. 49-51.
 28. Горбатова, И. В. Изучение экспрессии гомологов генов PM19L, CML31 и AOS2 в облученных сортах ячменя / И. В. Горбатова, Е. А. Казакова, П. Ю. Волкова // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии : Сборник тезисов докладов 20-й Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева, Москва, 27-29 октября 2020 года. – Москва: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», 2020. – С. 18-20.
 29. Гордеев, Ю. А. Методологические и агробиологические основы предпосевной биоактивации семян сельскохозяйственных культур потоком низкотемпературной плазмы : специальность 06.01.03 «Агрофизика» : автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук / Гордеев Юрий Анатольевич ; Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Смоленская государственная сельскохозяйственная академия». – Смоленск, 2012. – 46 с.
 30. Григорьев, А. И. К вопросу о радиационном барьере при пилотируемых межпланетных полетах / А. И. Григорьев, Е. А. Красавин, М. А. Островский // Вестник Российской Академии Наук. – 2017. – Т. 87, № 1. – С. 65-69.
 31. Григорьев, А. И. Медико-биологические проблемы пилотируемой экспедиции на Марс / А. И. Григорьев, А. Н. Потапов // Вестник Московского университета. Серия 23. Антропология. – 2014. – № 1. – С. 4-16.
 32. Гродзинский, Д. М. Радиобиология растений / Д. М. Гродзинский ; АН УССР, Институт ботаники им. Н. Г. Холодного. – Киев : Наукова думка, 1989. – 379, [1] с.
 33. Гудков, И. Н. Клеточные механизмы пострadiационного восстановления растений / И. Н. Гудков. – Киев : Наукова думка, 1985. – 223 с.

34. Гудков, И. Н. Основы общей и сельскохозяйственной радиобиологии : учебное пособие для вузов по агр. спец. / И. Н. Гудков. – Киев : Издательство УСХА, 1991. – 325 с.
35. Гудым, Е. В. Митотическая активность и частота хромосомных нарушений в корешках амаранта под влиянием гамма-излучения / Е. В. Гудым // Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. – 2016. – № 4. – С. 43-46.
36. Действие γ -излучения в малых дозах на цитогенетические параметры проростков семян лука *Allium сера* в экспериментах разной длительности / А. В. Зуева, Е. А. Трофимова, Д. В. Дементьев [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2021. – Т. 61, № 2. – С. 180-188.
37. Джафаров, Э. С. Предпосевное гамма-облучение семян как фактор, стимулирующий развитие растений в солевых условиях / Э. С. Джафаров // Актуальные проблемы радиационной биологии : к 60-летию создания Научного совета РАН по радиобиологии, Дубна, 25-27 октября 2022 г. : материалы конференции / Российская академия наук, Отделение физиологических наук РАН, Объединенный институт ядерных исследований. – Дубна : ОИЯИ, 2022. – С. 30-34.
38. Ерофеева, Е. А. Гормезис и парадоксальные эффекты у растений в условиях автотранспортного загрязнения и при действии поллютантов в эксперименте : специальность 03.02.08 «Экология» : диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Елена Александровна Ерофеева ; Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского. – Нижний Новгород, 2016. – 184 с.
39. Ерофеева, Е. А. Сравнительный анализ влияния средового стресса на содержание диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в листовой пластинке березы повислой, произрастающей в условиях городской среды / Е. А. Ерофеева, М. М. Наумова, О. Н. Лисицина // Современная физиология растений: от молекул до экосистем : Материалы докладов Международной конференции: в 3 частях, Сыктывкар, 18-24 июня 2007 года / Ответственный редактор Т. К. Головкин. – Сыктывкар : Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук, 2007. – Том 2 Часть 2. – С. 133-135.
40. Закономерности индукции малыми дозами ионизирующего излучения цитогенетических повреждений в корневой меристеме проростков ячменя / С. А. Гераськин, В. Г. Дикарев, А. А. Удалова [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1999. – Т. 39, № 4. – С. 373-383.
41. Золотухин, П. В. Современные методы анализа транскриптомных профилей : Научно-образовательные материалы для студентов по теме / П. В. Золотухин. – Ростов на Дону : [б. и.], 2013. – 69 с.

42. Изменения профиля экспрессии генов в зародышах гамма-облучённых семян ячменя / П. Ю. Волкова, Г. Т. Дуарте, Е. А. Казакова [и др.] // Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии : Сборник тезисов докладов 19-ой Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева, Москва, 15-16 апреля 2019 года. – Москва : Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», 2019. – С. 34-35.
43. Караева, К. Г. Исследование содержания малонового диальдегида в двух поколениях *Solanum melongena* L., семена которого перед первым посевом подверглись к воздействию γ -лучей при разных дозах / К. Г. Караева, Э. С. Джафаров // Евразийский Союз Ученых. – 2016. – № 6. – С. 73-74.
44. Кияк, Н. Я. Влияние свинца на интенсивность процессов ПОЛ на разных этапах развития гаметофита мха *Fumaria hygrometrica* Hedw / Н. Я. Кияк // Современная физиология растений: от молекул до экосистем : Материалы докладов Международной конференции: в 3 частях, Сыктывкар, 18-24 июня 2007 года / Ответственный редактор Т. К. Головкин. – Сыктывкар: Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук, 2007. – Том 2 Часть 2. – С. 187-189.
45. Козьмин, Г. В. Радиационные технологии в сельском хозяйстве и пищевой промышленности / Г. В. Козьмин, С. А. Гераськин, Н. И. Санжарова – Обнинск : ВНИИРАЭ, 2015. – 400 с.
46. Коломиец, К. Д. Биосинтез белков и радиационные эффекты в клетке / К. Д. Коломиец. – Киев : Наукова думка, 1982. – 182 с.
47. Колупаев, Ю. Е. Активность антиоксидантных ферментов и содержание осмолитов в проростках озимых злаков при закаливании и криострессе / Ю. Е. Колупаев // Физиология растений. – 2015. – Т. 62, № 4. – С. 533-541.
48. Колупаев, Ю. Е. Пролин: физиологические функции и регуляция содержания в растениях в стрессовых условиях / Ю. Е. Колупаев, А. А. Вайнер, Т. О. Ястреб // Вестник Харьковского национального аграрного университета. Серия Биология. – 2014. – Вып. 2 (32). – С. 6-22.
49. Костин, В. И. Влияние малых доз ионизирующей радиации на интенсивность и направленность метаболизма сельскохозяйственных культур / В. И. Костин // I Всесоюзный радиобиологический съезд, Москва, 21-27 августа 1989 г. : тезисы докладов [в 5 т.] / Акад. наук СССР, Науч. центр биол. исслед. – Пущино : Научный центр биологических исследований АН СССР в Пущине, 1989. – Т. III. – С. 52-54.

50. Креславский, В. Д. Сигнальная роль активных форм кислорода при стрессе у растений / В. Д. Креславский, Д. А. Лось, С. И. Аллахвердиев // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 2. – С. 163-178.
51. Кузин, А. М. Молекулярные механизмы стимулирующего действия ионизирующего излучения на семена растений / А. М. Кузин // Радиобиология. – 1972. – Т. 12, вып. 5. – С. 635-643.
52. Кузин, А. М. Радиационный гормезис / А. М. Кузин // Радиационная медицина : руководство для врачей-исследователей, организаторов здравоохранения и специалистов по радиационной безопасности [в 4 т.] / М. В. Васин, И. А. Гусев, А. К. Гуськова [и др.]. – Москва : ИздАТ, 2004. – Том 1. Теоретические основы радиационной медицины. – С. 861-871.
53. Куликова, Т. И. Действие ионизирующего излучения на первый митотический цикл в корневой меристеме семян ячменя : специальность 03.00.01 «Радиобиология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Куликова Татьяна Ивановна ; Всесоюзный научно-исследовательский институт сельскохозяйственной радиологии. – Обнинск, 1983. – 26 с.
54. Лазаревич, Н. В. Радиобиология. Часть 2. Радиобиология растений : курс лекций. / Н. В. Лазаревич, И. И. Сергеева, С. С. Лазаревич. – Горки: Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, 2011. – 84 с.
55. Ларикова, Н. В. Оценка экологического состояния поверхностных вод в районе рудника «Веселый» / Н. В. Ларикова, И. А. Архипов, Ю. В. Робертус // Мир науки, культуры, образования. – 2012. – Т. 37, № 6. – С. 459-463.
56. Ли, Д. Е. Действие радиации на живые клетки / Д. Е. Ли. – Москва : Госатомиздат, 1963. – 288 с.
57. Михеев, А. Н. Гиперадаптация. Стимулированная онтогенетическая адаптация растений / А. Н. Михеев. – Киев : Фотосоциоцентр, 2015. – 423 с.
58. Нефедьева, Е. Э. Давление как фактор регуляции у растений: монография / Е. Э. Нефедьева, В. И. Лысак. – Волгоград : ВолгГТУ, 2009. – 188 с.
59. Николаев, П. Н. Оценка белковости зерна и адаптивности коллекционных сортов ярового ячменя в условиях южной лесостепи Омской области / П. Н. Николаев, О. А. Юсова, Н. И. Аниськов // Агрофизика. – 2019. – № 1. – С. 45-51.
60. Новые аспекты закономерностей действия низкоинтенсивного облучения в малых дозах / Е. Б. Бурлакова, А. Н. Голощапов, Г. П. Жижина, А. А. Конрадов // Радиационная биология. Радиоэкология. – 1999. – Т. 39, № 1. – С. 26-33.

61. Паушева, З. П. Практикум по цитологии растений : учебное пособие / З. П. Паушева. – Москва : Агропромиздат, 1988. – 271 с.
62. Петин, В. Г. Радиационный гормезис при действии малых доз ионизирующего излучения / В. Г. Петин, М. Д. Пронкевич. – Обнинск : ИАТЭ НИЯУ МИФИ, 2012. – 73 с.
63. Петрукович, А. А. Солнечно-земные связи и космическая погода / А. А. Петрукович, А. В. Дмитриев, А. Б. Струминский // Плазменная гелиофизика. – Москва : Физматлит, 2008. – Т. 2. – 55 с.
64. Позняк, Е. И. Исходный материал для селекции пивоваренного ячменя / Е. И. Позняк // Земледелие и селекция в Беларуси. – 2011. – № 47. – С. 240-247.
65. Преображенская, Е. И. Радиоустойчивость семян растений / Е. И. Преображенская. – Москва : Атомиздат, 1971. – 232 с.
66. Прохорова, И. М. Растительные тест-системы для оценки мутагенов / И. М. Прохорова. – Ярославль : ЯрГУ, 1988. – 13 с.
67. Радиочувствительность сортов озимого и ярового ячменя по выраженности морфологического эффекта низкодозового гамма-облучения оригинальных семян / Е. А. Казакова, Е. С. Макаренко, М. С. Подлущкий [и др.] // Зерновое хозяйство России. – 2020. – № 2. – С. 23-28.
68. Радюкина, Н. Л. Участие низкомолекулярных антиоксидантов в кросс-адаптации лекарственных растений к последовательному действию UV-B облучения и засоления / Н. Л. Радюкина, В. И. М. Тоайма, Н. Р. Зарипова // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 1. – С. 80.
69. Радюкина, Н. Л. Участие пролина в системе антиоксидантной защиты у шалфея при действии NaCl и параквата / Н. Л. Радюкина, А. В. Шашукова, Н. И. Шевякина // Физиология растений. – 2008. – Т. 55, № 5. – С. 721-730.
70. Ребриков, Д. В. ПЦР в реальном времени / Д. В. Ребриков, Г. А. Саматов, Д. Ю. Трофимов. – Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2009. – 223 с.
71. Рогожин, Ю. В. Технология предпосевного УФ-облучения зерен пшеницы / Ю. В. Рогожин, В. В. Рогожин // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – № 6. – С. 9-14.
72. Сарапульцев, Б. И. Генетические основы радиорезистентности и эволюция / Б. И. Сарапульцев, С. А. Гераськин. – Москва : Энергоатомиздат, 1993. – 208 с.
73. Сергеева, Л. Е. Проллин у растений и клеточных культур кукурузы при действии осмотических стрессов *in vitro* / Л. Е. Сергеева, Л. И. Бронникова, М. О. Дыкун // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2016. – Т. 18. – С. 145-148.

74. Серегин, И. В. Физиологические аспекты токсического действия кадмия и свинца на высшие растения / И. В. Серегин, В. Б. Иванов // Физиология растений. – 2001. – Т. 48, № 4. – С. 606-630.
75. Синькевич, М. С. Активность антиоксидантных ферментов в листьях картофеля при окислительном стрессе, индуцированном гипотермией / М. С. Синькевич // Растение и стресс. – Москва : Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 2010. – С. 322-323.
76. Скрыпник, Л. Н. Эколого-биохимические аспекты протекторной функции селена в растениях при окислительном стрессе : специальность 03.00.16 «Экология», 03.00.12 «Физиология и биохимия растений» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Скрыпник Любовь Николаевна ; Российский государственный университет им. Иммануила Канта. – Калининград, 2009. – 22 с.
77. Смоликов, Г. Н. Роль хлорофиллов и каротиноидов в устойчивости семян к абиотическим стрессорам / Г. Н. Смоликов, Н. А. Ламан, О. В. Борискевич // Физиология растений. – 2011. – Т. 58, № 6. – С. 817-825.
78. Сошинкова, Т. Н. Пролин и функционирование антиоксидантной системы растений и культивируемых клеток *Thellungiella salsuginea* при окислительном стрессе / Т. Н. Сошинкова, Н. Л. Радюкина, Д. В. Королькова // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 1. – С. 47-60.
79. Сравнительный анализ эффективности использования интеркалярных и апикальных меристем ячменя для биоиндикации генотоксического действия свинца / В. Г. Дикарев, С. А. Гераськин, А. В. Дикарев, Н. С. Дикарева // Экологическая генетика. – 2018. – Т. 16, № 3. – С. 37-46.
80. Таланова, В. В. Влияние свинца и кадмия на проростки ячменя / В. В. Таланова, А. Ф. Титов, Н. П. Боева // Физиология и биохимия культурных растений. – 2001. – Т. 33, № 1. – С. 33-37.
81. Тютерева, Е. В. Хлорофилл b как источник сигналов, регулирующих развитие и продуктивность растений (обзор) / Е. В. Тютерева, В. А. Дмитриева, О. В. Войцеховская // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52, № 5. – С. 843-855.
82. Устойчивость растений к тяжелым металлам / А. Ф. Титов, В. В. Таланова, Н. М. Казнина, Г. Ф. Лайдинен ; Ответственный редактор Н. Н. Немова ; Институт биологии Карельского НЦ РАН. – Петрозаводск : Карельский научный центр РАН, 2007. – 172 с.

83. Филиппова, Г. В. Влияние предпосевного γ -облучения семян костреца безостого (*Bromopsis inermis*) и люцерны серповидной (*Medicago falcate* L.) на выживаемость в условиях высокой щелочности почв Центральной Якутии / Г. В. Филиппова, Г. В. Ксенофонтова // Наука и образование. – 2009. – № 2. – С. 77-80.
84. Хелдт, Г. В. Биохимия растений : учебник / Г. В. Хелдт. – Москва : БИНОМ, 2014. – С. 58-106.
85. Цандекова, О. Л. Роль перекисного окисления липидов в процессах адаптации сосны обыкновенной в условиях породного отвала / О. Л. Цандекова // Научные достижения биологии, химии, физики : материалы Международной заочной научно-практической конференции, Новосибирск, 7 ноября 2012 г. – Новосибирск : Сибирская ассоциация консультантов, 2012. – С. 88-92.
86. Цитогенетические эффекты в популяциях *Koeleria gracilis* Pers. с территории Семипалатинского испытательного полигона / С. А. Гераськин, Е. М. Мозолин, В. Г. Дикарев [и др.] // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2009. – Т. 49, № 2. – С. 147-157.
87. Чепалов, В. А. Роль каротиноидов в адаптации побегов пшеницы к низкотемпературному стрессу растения / В. А. Чепалов, В. В. Нохсоров, К. А. Петров // Растение и стресс : тезисы докладов всероссийского симпозиума, Москва, 9-12 ноября 2010 г. – Москва : Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, 2010. – С. 381-382.
88. Чупахина, Г. Н. Реакция пигментной и антиоксидантной систем растений на загрязнение окружающей среды г. Калининграда выбросами автотранспорта / Г. Н. Чупахина, П. В. Масленников, Л. Н. Скрыпник // Вестник Томского государственного университета. Биология. – 2012. – № 2. – С. 171-185.
89. Чурюкин, Р. С. Влияние облучения (^{60}Co) семян ячменя на развитие растений на ранних этапах онтогенеза / Р. С. Чурюкин, С. А. Гераськин // Радиация и риск. – 2013. – Т. 22, № 3. – С. 80-92.
90. Шибарова, А. Н. Анализ влияния малых доз ионизирующей радиации на протонную проницаемость и активность АТФазы плазмолеммы клеток высшего растения (*Cucurbita Pepo*) : специальность 03.00.12 «Физиология и биохимия растений» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Шибарова Анна Николаевна ; Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского. – Нижний Новгород, 2006. – 24 с.

91. Шихалеева, Г. Н. Модифицированная методика определения пролина в растительных объектах / Г. Н. Шихалеева, О. К. Будняк, И. И. Шихалеев // Вестник Харьковского университета. Биология. – 2014. – Т. 21, № 1112. – С. 168-172.
92. Шубина, А. Г. Содержание хлорофилла и каротиноидов в листьях одуванчика лекарственного (*Taraxacum Officinale*) и березы повислой (*Betula Pendula* Roth), растущих в г. Тамбове / А. Г. Шубина // XVI Державинские чтения : материалы Общероссийской научной конференции, Тамбов, 01-28 февраля 2011 года / М-во образования и науки Российской Федерации, Гос. образовательное учреждение высш. проф. образования "Тамбовский гос. ун-т им. Г. Р. Державина". – Тамбов: ТГУ им. Г. Р. Державина, 2011. – С. 353-355.
93. Эйдуc, Л. Х. Проблемы механизма радиационного и химического гормезиса / Л. Х. Эйдуc, В. Л. Эйдуc // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2001. – Т. 41, № 5. – С. 627-630.
94. Юрина, Н. П. Светоиндуцируемые стрессовые белки плаcтид фототрофов / Н. П. Юрина, Д. В. Мокерова, М. С. Одинцова // Физиология растений. – 2013. – Т. 60, № 5. – С. 611.
95. Ярмоненко, С. П. Радиобиология человека и животных : учебник / С. П. Ярмоненко, А. А. Вайнсон. – Москва : Высшая школа, 2004. – 549 с.
96. A barley cDNA clone encoding a type III chlorophyll a/b-binding polypeptide of the light-harvesting complex II / J. Brandt, V. S. Nielsen, H. Thordal-Christensen [et al.] // Plant Molecular Biology. – 1992. – V. 19. – P. 699-703.
97. A chlorophyll-deficient rice mutant with impaired chlorophyllide esterification in chlorophyll biosynthesis / Z. Wu, X. Zhang, B. He [et al.] // Plant Physiol. – 2007. – V. 145, № 1. – P. 29-40.
98. A new Arabidopsis mutant induced by ion beams affects flavonoid synthesis with spotted pigmentation in testa / A. Tanaka, S. Tano, T. Chantes [et al.] // Jpn. J. Genet. – 1997. – V. 72, № 3 – P. 141-148.
99. A role for PM19-Like 1 in seed dormancy in Arabidopsis Seed / J. M. Barrero, M. M. Dorr, M. J. Talbot [et al.] // Sci. Res. – 2019. – V. 29. – P. 184-196.
100. Absciscic acid regulates gene expression in cortical fiber cells and silica cells of rice shoots / Z. S. Shobbar, R. Oane, R. Gamuyao [et al.] // New Phytol. – 2008. – V. 178, № 1. – P. 68-79.
101. Afzal, F. Reactive oxygen species and antioxidants in response to pathogens and wounding / F. Afzal // Oxidative damage to plants. Academic Press. – 2014. – P. 397-424.

102. Aly, A. A. Physiological and molecular studies on ISSR in two wheat cultivars after exposing to gamma radiation / A. A. Aly, N. E. Eliwa, R. W. Maraie // *Scienceasia*. – 2019. – V. 45, № 5. – P. 436-445.
103. An ultraviolet-B-resistant mutant with enhanced DNA repair in *Arabidopsis* / A. Tanaka, A. Sakamoto, Y. Ishigaki [et al.] // *Plant Physiol.* – 2002. – V. 129, № 1. – P. 64-71.
104. Apel, K. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction / K. Apel, H. Hirt // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2004. – V. 55. – P. 373-399.
105. Application of gamma rays on salinity tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) and expression of genes related to biosynthesis of proline, glycine betaine and antioxidant enzymes / A. Askari Kelestani, S. Ramezanpour, A. Borzouei [et al.] // *Physiol Mol Biol Plants*. – 2021. – V. 27. – P. 2533-2547.
106. Bailey-Serres, J. The roles of reactive oxygen species in plant cells / J. Bailey-Serres, R. Mittler // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 141, № 2. – P. 311.
107. Bhat, N. N. Proton beam set-up for radiobiological studies / N. N. Bhat, B. K. Sapra, S. K. Gupta // *BARC Newsletter*. – 2015. – V. 346. – P. 5-7.
108. Biochemical Responses of Soybean (*Glycine max* L. Merr.) to Proton Beam Irradiation / J. Im, J. Ko, H. Y. Kim [et al.] // *Plant Breed. Biotech.* – 2017. – V. 5. – P. 97-105.
109. Biological effects of alpha-radiation exposure by ²⁴¹Am in *Arabidopsis thaliana* seedlings are determined both by dose rate and ²⁴¹Am distribution / G. Biermans, N. Horemans, N. Vanhoudt [et al.] // *J. Environ. Radioact.* – 2015. – V. 149. – P. 51-63.
110. Biological effects of gamma-ray radiation on tulip (*Tulipa gesneriana* L.) / Y. Li, L. Chen, X. Zhan [et al.]. – Текст: электронный // *Peer J*, 2022. – № 10. – URL: <https://peerj.com/articles/12792/> (дата обращения: 19.05.2023 г.).
111. Biological effects of three types of ionizing radiation on creeping bentgrass / S. H. Kim, Y. S. Kim, H. J. Lee [et al.] // *International Journal of Radiation Biology*. – 2019. – V. 95, № 9. – P. 1295-1300.
112. Bouteau, H. E. Oxidative signaling in seed germination and dormancy / H. E. Bouteau // *Plant Signaling & Behavior*. – 2008. – V. 3, № 3. – P. 175-182.
113. Characterization of OsPM19L1 encoding an AWPM-19-like family protein that is dramatically induced by osmotic stress in rice / H. Chen, H. Lan, P. Huang [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2015. – V. 14, № 4. – P. 1994-2005.
114. Choudhary, N. L. Expression of delta1-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene during drought in rice (*Oryza sativa* L.) / N. L. Choudhary, R. K. Sairam, A. Tyagi // *Indian J. Biochem. Biophys.* – 2005. – V. 42. – P. 366-370.

115. Chourey, K. Accumulation of LEA proteins in salt (NaCl) stressed young seedlings of rice (*Oryza sativa* L.) cultivar Bura Rata and their degradation during recovery from salinity stress / K. Chourey, S. Ramani, S. K. Apte // *J. Plant Physiol.* – 2003. – V. 160, № 10. – P. 1165-1174.
116. Comprehensive Sequence Analysis of 24,783 Barley Full-Length cDNAs Derived from 12 Clone Libraries / T. Matsumoto, T. Tanaka, H. Sakai [et al.] // *Plant Physiology.* – 2011. – V. 156, № 1. – P. 20-28.
117. Contribution of Exogenous Proline to Abiotic Stresses Tolerance in Plants: A Review / M. Hosseini-fard, S. Stefaniak, M. Ghorbani Javid [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2022. – V. 23, № 9. – P. 51-86.
118. Davies, K. J. A. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems / K. J. A Davies // *IUBMB Life.* – 2000. – V. 50, № 4. – P. 279-289.
119. Deoli, N. T. Irradiation effects of MeV protons on dry and hydrated *Brassica rapa* seeds / N. T. Deoli, K. H. Hasenstein // *Life Sciences in Space Research.* – 2018. – V. 19. – P. 24-30.
120. DNA damage and oxidative stress induced by proton beam in *Cymbidium* hybrid / Y. M. Lee, Y. D. Jo, H. J. Lee [et al.] // *Hortic. Environ. Biotechnol.* – 2015. – V. 56. – P. 240-246.
121. Do toxic ions induce hormesis in plants? Review / C. Poschenrieder, C. Cabot, S. Martos [et al.] // *Plant Science.* – 2013. – V. 212. – P. 15-25.
122. Durante, M. Space radiation protection: Destinati on Mars / M. Durante // *Life Sciences in Space Research.* – 2014. – № 1. – P. 2-9.
123. Early response of barley embryos to low- and high-dose gamma irradiation of seeds triggers changes in the transcriptional profile and an increase in hydrogen peroxide content in seedlings / P. Y. Volkova, G. T. Duarte, L. Soubigou-Taconnat [et al.] // *J. Agron. Crop Sci.* – 2020. – V. 206, № 2. – P. 277-295.
124. Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants / S. V. Gudkov, M. A. Grinberg, V. Sukhov [et al.] // *Journal of Environmental Radioactivity.* – 2019. – V. 202. – P. 8-24.
125. Effects of Carbon Ion Beam Irradiation on Phenotypic Variations and Biochemical Parameters in Early Generations of Soybean Plants / X. Wang, C. K. Liu, B. J. Tu [et al.]. – Текст: электронный // *Agriculture.* – 2021. – V. 11, № 2. – Article: 98. – URL: <https://doi.org/10.3390/agriculture11020098> (дата обращения: 04.02.2024 г.).
126. Effects of gamma irradiation on morphological changes and biological responses in plants / S. G. Wi, B. Y. Chung, J. S. Kim [et al.] // *Micron.* – 2007. – V. 38, № 6. – P. 553-564.

127. Effects of proton beam irradiation on seed germination and growth of soybean (*Glycine max* L. Merr.) / J. Im, W. J. Kim, S. H. Kim, B.-K. Ha // *Journal of the Korean Physical Society*. – 2017. – V. 71, № 11. – P. 752-757.
128. Effects of Seed Priming with Gamma Radiation on Growth, Photosynthetic Functionality, and Essential Oil and Phytochemical Contents of Savory Plants / V. Mohammadi, M. Zare Mehrjerdi, A. Rastogi [et al.] // *Horticulturae*. – 2024. – V. 10, № 7. – P. 677.
129. Erofeeva, E. A. Plant hormesis and Shelford's tolerance law curve / E. A. Erofeeva // *J. For. Res.* – 2021. – V. 32. – P. 1789-1802.
130. Evaluation of energy deposition and secondary particle production in proton therapy of brain using a slab head phantom / S. B. Jia, M. H. Hadizadeh, A. A. Mowlavi, M. E. Loushab // *Reports of Practical Oncology and Radiotherapy*. – 2014. – V. 19, № 6. – P. 376-384.
131. Expression and promoter analysis of six heat stress-inducible genes in rice / W. Rerksiri, X. Zhang, H. Xiong, X. Chen // *Scientific World Journal*. – 2013. – Article: 397401.
132. Expression of genes for selected plant aminoacyl-tRNA synthetases in the abiotic stress / J. Baranašić, A. Mihalak, I. Gruić-Sovulj [et al.] // *Acta Botanica Croatica*. – 2021. – V. 80, № 1. – P. 35-42.
133. Feinendegen, L. A. Evidence for beneficial low level radiation effects and radiation hormesis / L. A. Feinendegen // *The British Journal of Radiology*. – 2005. – V. 78. – P. 3-7.
134. Ferdosizadeh, L. Assessment of Diode Laser Pretreatments on Germination and Yield of Wheat (*Triticum aestivum* L.) under Salinity Stress / L. Ferdosizadeh // *World Journal of Agricultural Research*. – 2013. – V. 1, № 1. – P. 5-9.
135. Ferreira, E. A. In vitro sensitivity of fig plantlets to gamma rays / E. A. Ferreira, M. Pasqual, A. Tulmann Neto // *Scientia Agricola*. – 2009. – V. 66. – P. 540-542.
136. Fiskesjö, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring / G. Fiskesjö // *Hereditas*. – 1985. – V. 102, № 1. – P. 99-112.
137. Formaggio, E. Functional architecture of the major light-harvesting complex from higher plants / E. Formaggio, G. Cinque, R. Bassi // *J. Mol. Biol.* – 2001. – V. 314, Issue 5. – P. 1157-1166.
138. FRL1 is required for petal and sepal development in *Arabidopsis* / Y. Hase, A. Tanaka, T. Baba [et al.] // *Plant J. Cell Mol. Biol.* – 2000. – V. 24. – P. 21-32.
139. Functional architecture of higher plant photosystem II supercomplexes / S. Caffarri, R. Kouril, S. Kereiche [et al.] // *The EMBO Journal*. – 2009. – V. 28, № 19. – P. 3052-3063.
140. Gamma radiation effects on seed germination, growth and pigment content, and ESR study of induced free radicals in maize (*Zea mays*) / D. Marcu, G. Damian, C. Cosma [et al.] // *J. Biol. Phys.* – 2013. – V. 39, № 4. – P. 625-634.

141. Geras'kin, S. Radiation exposure of barley seeds can modify the early stages of plants' development / S. Geras'kin, R. Churyukin, P. Volkova // J. Environ. Radioact. – 2017. – V. 177. – P. 71-83.
142. Geras'kin, S. A. Plant adaptation to ionizing radiation: Mechanisms and patterns / S. A. Geras'kin // The Science of the Total Environment. – 2024. – V. 916. – Article: 170201.
143. Geras'kin, S. A. Radiation exposure of barley seeds can modify the early stages of plants' development / S. A. Geras'kin, R. S. Churyukin, P. Yu. Volkova // Journal of Environmental Radioactivity. – 2017. – V. 171. – P. 71-83.
144. Ghasemi-Soloklui, A. A. Determination of optimal gamma radiation dose for mutation breeding in 'Sabz' fig (*Ficus carica* L.) cuttings based on radiosensitivity and phenotypic changes / A. A. Ghasemi-Soloklui, M. Kordrostami, M. Jafari. – Текст: электронный // PLoS ONE. – 2025. – V. 20, № 1. – URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0313017> (дата обращения: 17.01.2025 г.).
145. Hassan, S. F. Effect of radiation stress on some physiological and chemical indicators of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) plant / S. F. Hassan, M. K. Al-Ghufaili // Current Clinical and Medical Education. – 2024. – V. 2, № 3 – P. 1-5.
146. Hormetic effects of low-dose gamma rays in soybean seeds and seedlings: a detection technique using optical sensors / N. M. Oliveira, A. D. de Medeiros, M. de L. Nogueira [et al.] // Comput. Electron. Agric. – 2021. – V. 187. – Article: 106251.
147. Impact of presowing laser irradiation of seeds on sugar beet properties / E. Sacala, A. Demczuk, E. Grzyś [et al.] // International Agrophysics. – 2012. – V. 26, № 3. – P. 295-300.
148. Jain, S. M. Mutagenesis in crop improvement under the climate change / S. M. Jain // Romanian Biotechnological Letters. – 2010. – V. 15, № 2. – P. 88-106.
149. Khazaei, H. Ion beam irradiation mutagenesis in rye (*Secale cereale* L.), linseed (*Linum usitatissimum* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.) / H. Khazaei, P. S. A. Mäkelä, F. L. Stoddard // Agricultural and Food Science. – 2018. – V. 27, № 3. – P. 146-151.
150. Kurdziel, M. The impact of short-term UV irradiation on grains of sensitive and tolerant cereal genotypes studied by EPR / M. Kurdziel, M. Filek, M. Łabanowska // J. Sci. Food Agric. – 2018. – V. 98, № 7. – P. 2607-2616.
151. *Lemna minor* plants chronically exposed to ionising radiation: RNA-seq analysis indicates a dose rate dependent shift from acclimation to survival strategies / A. Van Hoeck, N. Horemans, R. Nauts [et al.] // Plant Sci. – 2017. – V. 257. – P. 84-95.

152. Light-dependent induction of proline biosynthesis by abscisic acid and salt stress is inhibited by brassinosteroid in *Arabidopsis* / E. Abraham, G. Rigo, G. Szekely [et al.] // *Plant Mol. Biol.* – 2003. – V. 51. – P. 363-372.
153. Linear Energy Transfer-Dependent Change in Rice Gene Expression Profile after Heavy-Ion Beam Irradiation / K. Ishii, Y. Kazama, R. Morita [et al.]. – Текст: электронный // *PLoS ONE*. – 2016. – V. 11, № 7. – URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160061> (дата обращения: 21.02.2024 г.).
154. Majeed, A. Variation in chlorophyll contents and grain yield of *Lepidium sativum* L. as induced by gamma irradiation / A. Majeed, H. Ahmad, Z. Muhammad // *International Journal of Biological Sciences and Engineering*. – 2010. – V. 1, № 2. – P. 147-151.
155. Marcu, D. Dose-dependent effects of gamma radiation on lettuce (*Lactuca sativa* var. capitata) seedlings / D. Marcu, V. Cristea, L. Daraban // *International Journal of Radiation Biology*. – 2012. – V. 89, № 3. – P. 219-223.
156. Mattioli, R. Proline accumulation in plants: not only stress / R. Mattioli, P. Costantino, M. Trovato // *Plant Signal. Behav.* – 2009. – V. 4, № 11. – P.1016-1018.
157. Mattson, M. P. Hormesis: A Revolution in Biology, Toxicology and Medicine / M. P. Mattson, M. P. Calabrese. – New York : Humana press, 2010. – XIV, 213 p.
158. Metabolic profiling of γ -irradiated barley plants identifies reallocation of nitrogen metabolism and metabolic stress response / P. Yu. Volkova, G. Clement, E. S. Makarenko [et al.]. – Текст: электронный // *Dose Res.* – 2020. – V. 18, № 1. – URL: <https://doi.org/10.1177/1559325820914186> (дата обращения: 16.07.2024 г.).
159. Molecular characterization of proton beam-induced mutations in soybean using genotyping-by-sequencing / W. J. Kim, J. Ryu, J. Im [et al.] // *Molecular Genetics and Genomics*. – 2018. – T. 293, № 5. – C. 1169-1180.
160. Mou, B. Mutations in Lettuce Improvement / B. Mou // *International Journal of Plant Genomics*. – 2011. – Article: 723518.
161. Moussa, H. R. Low Dose of Gamma irradiation enhanced drought tolerance in soybean / H. R. Moussa // *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. – 2011. – V. 17, № 1. – P. 63-72.
162. O'Donoghue, P. On the Evolution of Structure in Aminoacyl-tRNA Synthetases / P. O'Donoghue, Z. Luthey-Schulten // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2003. – V. 67, № 4. – P. 550-573.
163. Ohkawa, H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi // *Anal Biochem.* – 1979. – № 95, № 2. – P. 351-358.

164. Okamoto, H. Effect of low dose γ -irradiation on the cell cycle duration of barley roots / H. Okamoto, A. Tatara // *Environmental and Experimental Botany*. – 1995. – V. 35, № 3. – P. 379-388.
165. Olive varieties under UV-B stress show distinct responses in terms of antioxidant machinery and isoform/activity of RubisCO / C. Piccini, G. Cai, M. C. Dias [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – V. 22. – Article: 11214.
166. Pharmacology of natural radioprotectors / G. I. Mun, S. Kim, E. Choi [et al.] // *Archives of Pharmacal Research*. – 2018. – V. 41, № 11. – P. 1033-1050.
167. PIXE analysis of trace elements in relation to chlorophyll concentration in *Plantago ovata* Forsk / P. Saha, S. S. Raychaudhuri, A. Chakraborty, M. Sudarshan // *Appl. Radiat. Isot.* – 2010. – V. 68, № 3. – P. 444-449.
168. Prasad, S. M. Growth, photosynthetic electron transport, and antioxidant responses of young soybean seedlings to simultaneous exposure of nickel and UV-B stress / S. M. Prasad, R. Dwivedi, M. Zeeshan // *Photosynthetica*. – 2005. – V. 43. – P. 177-185.
169. Preuss, S. B. A DNA-damage-induced cell cycle checkpoint in *Arabidopsis* / S. B. Preuss, A. B. Britt // *Genetics*. – 2003. – V. 164, № 1. – P. 323-334.
170. Proline accumulation in plants: roles in stress tolerance and plant development / M. I. Dar, M. I. Naikoo, F. Rehman [et al.] // *Osmolytes and plants acclimation to changing environment: emerging omics technologies* / I. Noushina, N. Rahat, A. K Nafees. – India : Springer, 2016. – P. 155-166.
171. Proline improves switchgrass growth and development by reduced lignin biosynthesis / C. Guan, H. F. Cen, X. Cui [et al.]. – Текст: электронный // *Sci. Rep.* – 2019. – V. 9. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56575-9> (дата обращения: 05.04.2021 г.).
172. Rabie, K. Analysis of agric / K. Rabie, S. Shenata, M. Bondok // *Science*. – 1996. – № 41. – P. 551-566.
173. Radio sensitivity of Cowpea plants after gamma-ray and proton-beam irradiation / R. Kang, E. Seo, G. Kim [et al.] // *Plant Breed. Biotech.* – 2020. – V. 8. – P. 281-292.
174. Radio sensitivity of various chickpea genotypes in M1 generation I-Laboratory studies / T. M. Shah, J. I. Mirza, M. A. Haq, B. Atta // *Pak. J. Bot.* – 2008. – V. 40, № 2. – P. 649-665.
175. Reactive oxygen gene network of plants / R. Mittler, S. Vanderauwera, M. Gollery, F. Van Breusegem // *Trends in plant science*. – 2004. – V. 9, № 10. – P. 490-498.
176. Reactive oxygen species as signals that modulate plant stress responses and programmed cell death / T. S. Gechev, F. Van Breusegem, J. M. Stone [et al.] // *Bioessays*. – 2006. – V. 28. – P. 1091-1101.

177. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions / P. Sharma, A.B. Jha, R.S. Dubey, M. Pessarakli // *Journal of Botany*. – 2012. – № 1. – Article: 217037.
178. Requirement of proline sythesis during Arabidopsis reproductive development / D. Funck, G. Winter, L. Baumgarten [et al.] // *BMC Plant Biology*. – 2012. – V. 12. – P. 312-317.
179. Role of proline in cell wall synthesis and plant development and its implications in plant ontogeny / P. B. Kavi Kishor, P. H. Kumari, M. S. L. Sunita [et al.]. – Текст: электронный // *Frontiers in Plant Science*. – 2015. – V. 6. – URL: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00544> (дата обращения: 27.05.2024 г.).
180. Role of proline under changing environments: a review / S. Hayat, Q. Hayat, M. N. Alyemeni [et al.] // *Plant Signaling & Behavior*. – 2012. – V. 7, № 11. – P. 1456-1466.
181. Rossi, V. Insights into the G1/S transition in plants / V. Rossi, S. Varotto // *Planta*. – 2002. – V. 215, № 3. – P. 345-356.
182. Sen, A. Effect of gamma radiation on growth factors, biochemical paramteres, and accumulation of trace elements in soybean plants / A. Sen, S. Alikamanoglu, O. Yayclili // *Biological Trace Element Research*. – 2011. – V.141, № 1-3. – P. 283-293.
183. Some factors affecting the responses of plants to acute and chronic radiation exposures / A. H. Sparrow, R. L. Cuany, J. P. Miksche [et al.] // *Radiat. Bot.* – 1961. – V. 1, № 1. – P. 10-34.
184. Space radiation effects on plant and mammalian cells / C. Arena, V. De Micco, E. Macaeva [et al.] // *Acta Astronautica*. – 2014. – V. 104, Issue 1. – P. 419-431.
185. Studying gene expression in irradiated barley cultivars: Pm19l-like and cml31-like expression as possible determinants of radiation hormesis effect / I. V. Gorbatoва, E. A. Kazakova, M. S. Podlutskiy [et al.] // *Agronomy*. – 2020. – V. 10, № 11. – P. 18-37.
186. Tanaka, A. Studies on biological effects of ion beams on lethality, molecular nature of mutation, mutation rate, and spectrum of mutation phenotype for mutation breeding in higher plants / A. Tanaka, N. Shikazono, Y. Hase // *J. Radiat. Res.* – 2010. – V. 51, № 3. – P. 223-233.
187. The AWP19 Family Protein OsPM1 Mediates Absciscic Acid Influx and Drought Response in Rice / L. Yao, X. Cheng, Z. Gu [et al.] // *Plant Cell*. – 2018. – V. 30, № 6. – P. 1258-1276.
188. The effect of gamma radiation on seed germination and seedling growth of *Lathyrus chrysanthus* boiss. Under in vitro conditions / R. Beyaz, C. T. Kahramanogullari, C. Yildiz [et al.] // *J. Environ. Radioact.* – 2016. – V. 162-163. – P. 129-133.

189. The photosystem II light-harvesting protein Lhcb3 affects the macrostructure of photosystem II and the rate of state transitions in *Arabidopsis* / J. T. Damkjaer, S. Kereïche, M. P. Johnson [et al.] // *Plant Cell*. – 2009. – V. 21, № 10. – P. 3245-3256.
190. The structural basis of the genetic code: amino acid recognition by aminoacyl-tRNA synthetases / F. Kaiser, S. Krautwurst, S. Salentin [et al.]. – Текст: электронный // *Sci Rep*. – 2020. – V. 10. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69100-0> (дата обращения: 26.05.2024 г.).
191. Transcriptome analysis of high-temperature stress in developing barley caryopses: Early stress responses and effects on storage compound biosynthesis / E. Mangelsen, J. Kilian, K. Harter [et al.] // *Mol. Plant*. – 2011. – V. 4, № 1. – P. 97-115.
192. Use of proton beam as a novel tool for mutations in rice / V. Kumar, G. Vishwakarma, A. Chauha [et al.] // *BARC Newsl.* – 2018. – V. 366. – C. 5-9.
193. UV-B radiation affects photosynthesis-related processes of two Italian *Olea europaea* (L.) varieties differently / C. Piccini, G. Cai, M. C. Dias [et al.] // *Plants*. – 2020. – V. 9, № 12. – Article: 712.
194. Vass, I. Molecular mechanisms of photodamage in the Photosystem II complex / I. Vass // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics*. – 2012. – V. 1817, № 1. – P. 209-217.
195. Volkova, P. Y. Radiation hormesis in plants / P. Y. Volkova, E. V. Bondarenko, E. A. Kazakova // *Current Opinion in Toxicology*. – 2022. – V. 30. – Article: 100334.
196. Wide variety of flower-color and-shape mutants regenerated from leaf cultures irradiated with ion beams / M. Okamura, N. Yasuno, M. Ohtsuka [et al.] // *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res.* – 2003. – V. 206, № 1. – P. 574-578.
197. Zhu, J.-K. Abiotic stress signalling and responses in plants / J.-K. Zhu // *Cell*. – 2016. – V. 167, № 2. – P. 313-324.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Выражаю искреннюю и глубокую благодарность за поддержку и помощь в подготовке диссертационной работы научному руководителю, доктору биологических наук, профессору Отделения Биотехнологий ИАТЭ НИЯУ МИФИ Комаровой Людмиле Николаевне; кандидату биологических наук, доценту Отделения Биотехнологий ИАТЭ НИЯУ МИФИ Рассказовой Марине Михайловне, а так же группе эксплуатации облучательской установки лаборатории №12 (измерения ионизирующих излучений) НИЦ «Курчатовский институт» – ВНИИРАЭ; коллективу отдела радиационной биофизики МРНЦ имени А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; коллективу лаборатории ионного лучевого комплекса НИЦ «Курчатовский институт» – ИФВЭ.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»

Обнинский институт атомной энергетики –

филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования
«Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»

(ИАТЭ НИЯУ МИФИ)

Студгородок, д. 1, г. Обнинск, Калужская область, 249040

тел. (48439) 3-69-31, факс (48439) 7-08-22 E-mail: info@iate.obninsk.ru

17.06.2025 № исх/06-0917
На № _____ от _____

В диссертационный совет 68.1.003.01

123182, г. Москва,
ул. Живописная, 46. корп. 8а

Справка о внедрении

результатов диссертационной работы С.О. Афониной

«Оценка влияния редко- и плутонионизирующего излучения на морфологические, биохимические и генетические показатели пророщенных семян *Hordeum Vulgare L.*»

Результаты диссертационной работы **Афониной Светланы Олеговны** «Оценка влияния редко- и плутонионизирующего излучения на морфологические, биохимические и генетические показатели пророщенных семян *Hordeum vulgare L.*» внедрены в учебный процесс ИАТЭ НИЯУ МИФИ. В план практических занятий по дисциплине «Нормирование радиационного и химического загрязнения» для студентов направления 06.03.01 Биология, в практикум по дисциплине «Радиобиология» для студентов направления 06.03.01 Биология и направления подготовки 03.03.02 Физика. В план практических занятий по дисциплине «Биоэффекты малых доз радиации» для студентов магистратуры, обучающихся по направлению подготовки 06.04.01 «Биология» (профиль подготовки «Экспериментальная радиология»).

Результаты работы вошли в опубликованное учебно-методическое пособие Радиобиология: в трех частях. / Л.Н. Комарова, Е.Р. Ляпунова, М.В. Филимонова, А.В. Панов, **С.О. Афонина** – Обнинск: Национальный исследовательский ядерный университет НИЯУ МИФИ, 2024. – 60 с. ISBN 978-5-7262-3131-0. – EDN GSLTUL.

Заместитель директора ИАТЭ НИЯУ МИФИ
(по учебной деятельности)



М.Г. Ткаченко

Исполнитель:
Проф. ОБТ
Комарова Л.Н.
+7-910-9134380