

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

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Обнинск – 2025

Диссертация выполнена в Обнинском институте атомной энергетики — филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ» (ИАТЭ НИЯУ МИФИ), г. Обнинск.

Научный руководитель:

Комарова Людмила Николаевна, доктор биологических наук, доцент, профессор Отделения биотехнологий ИАТЭ НИЯУ МИФИ.

Официальные оппоненты:

Вагин Константин Николаевич, доктор биологических наук, заведующий отделением радиобиологии, Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности»

Столбова Валерия Владимировна, кандидат биологических наук, старший преподаватель кафедры радиоэкологии и экотоксикологии факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова

Ведущая организация:

Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук (ИЭРиЖ УрО РАН), г. Екатеринбург

Защита диссертации состоится «10» июня 2026 г. в 12:00 на заседании диссертационного совета 68.1.003.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России) по адресу: 123182, г. Москва, ул. Живописная, 46. Корп. 8а, Тел.: +7 (495) 190-96-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна» (ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России), и на сайте организации: <https://fmbafmbc.ru/nauka/dissertatsionnyy-sovet/>

Автореферат разослан «15» апреля 2026 года

Учёный секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Шандала Наталия Константиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

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». 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 (Волкова П.Ю., 2020; Джафаров Э.С., 2022; Чурюкин Р.С. и др., 2013). Несмотря на это, исследование влияния облучения на сельскохозяйственные культуры открывает новые горизонты для агрономии, посредством вклада 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.

Цель и задачи

Целью настоящего исследования являлся анализ влияния редко- и плотноионизирующего излучения на морфологические, биохимические и генетические показатели ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) трех сортов Витязь, Ладны и Бадьорий.

Задачи исследования:

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 а, хлорофилла б, 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 ^{12}C .

Теоретическая и практическая значимость работы

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 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 (г. Обнинск), на УНУ «ГУР-120» Источник излучения – ^{60}Co . Облучение тяжелыми ионами ^{12}C проводили на базе НИЦ «Курчатовский

институт» – ИФВЭ (г. Протвино) на каскаде ускорителя «У-70». Облучение протонами проводили на базе МРНЦ им. А.Ф. Цыба (г. Обнинск) на установке «Прометеус».

Длину ростка и главного корня определяли на седьмой день проращивания. На десятые 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 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 синтетазу и гена, кодирующего хлорофилл *ab*-связывающий белок ЛНСII 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 синтетазу.
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 РМ19L и пролил-тРНК синтетазу.
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.

Степень достоверности и апробация 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 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 $2^{-\Delta Ct}$.

Результаты данной работы были представлены на конференциях разного уровня – региональных, всероссийских и международных, в том числе: на Международной научно-практической конференции, посвященной памяти профессора Х.Х. Абдуллина «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 Пущинской школы-конференции молодых ученых с международным участием «Биология – наука XXI века» (Пущино, 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, радиэкологии и агроэкологии» (Обнинск, 2019); 70-й Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2017).

Публикации и личный вклад автора

По теме диссертации опубликована 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.

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.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту 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 гормонального действия (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).

Структура и объем диссертационной работы

Работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 197 источников, из которых 102 на иностранном языке. Диссертация изложена на 119 страницах, содержит 3 таблицы и 49 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении представлена актуальность темы диссертации, научная новизна и практическая значимость исследования, а также сформулированы цель и задачи исследования.

Глава 1. Обзор литературы

В главе рассмотрены основные радиобиологические эффекты действия ионизирующих излучений на растения. Представлены данные о востребованности ячменя и приведены характеристики трех изучаемых сортов ячменя обыкновенного. Проанализированы данные исследований по влиянию стрессовых факторов (включая ионизирующее излучение) на интенсивность фотосинтеза, содержание пролина, малонового диальдегида, митотический индекс, частоту цитогенетических нарушений и экспрессии генов стрессового ответа у растительных объектов.

Глава 2. Материалы и методы

Для проведения экспериментальной работы был выбран объект – ячмень обыкновенный (*Hordeum vulgare* L.) трех районированных сортов: Ладны, Витязь и Бадьорий.

Семена облучали в бумажных конвертах с площадью поверхности 25 см². 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 НИЦ «Курчатовский институт» ФГБНУ «ВНИИРАЭ» (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 – ⁶⁰Со. Облучение тяжелыми ионами ¹²С проводили на базе ФГБУ «ИФВЭ им. А.А. Логунова НИЦ «Курчатовский институт» (г. Протвино) на каскаде ускорителя «У-70» на «простреле» со средней начальной энергией 450 МэВ/нуклон с коллиматором с квадратным отверстием 50x50 мм после линзы Q7. Исследуемые дозы: 1, 2, 4 и 6 Гр.

Облучение протонами проводили на базе МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (г. Обнинск) на установке «Прометеус» на «простреле» со средней энергией 100 МэВ. Исследуемые дозы: 5, 10, 15, 20, 25, 50 Гр.

Облученные и необлученные (контрольные) семена проращивали в рулонных культурах на дистиллированной воде в термостате при +23°C в темноте. На второй день прорастания для анализа цитогенетических показателей часть корешков помещали в фиксатор Кларка на 24 часа. Затем 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 при -80°C до экстракции РНК для исследования экспрессии выбранных генов. На 5-ые сутки проращивания рулонные культуры помещали под фитолампу. На 7-ые сутки проводили измерение длины ростков 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 малонового диальдегида (МДА) в вытяжках, полученных из ростков ячменя, путем пересчета оптической плотности, полученной на фотометре КФК-3-01.

Для исследования цитогенетических показателей использовали стандартный метод давленных препаратов с окрашиванием ацетокармином. Препараты просматривали под световым микроскопом «Микмед-5» при 400- и 1000-кратном увеличении.

Для определения уровней транскрипционной активности генов в фиксированных зародышах, ростках и корнях ячменя использовали ПЦР в реальном времени с обратной транскрипцией. Праймеры были разработаны с

использованием программного обеспечения Primer BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>).

Статистические анализ. 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 3 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. 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

Влияние ионизирующего излучения на морфологические показатели ячменя

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

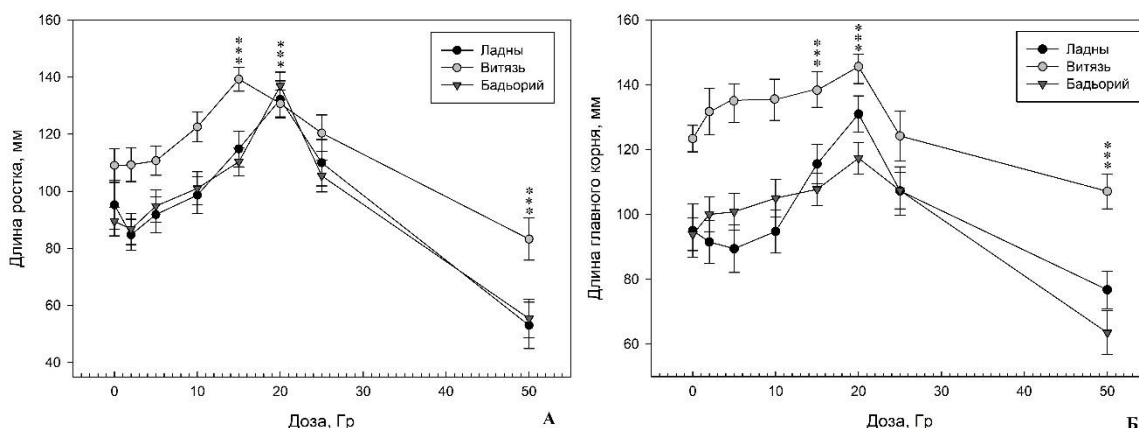


Рисунок 1 – Зависимость длины ростка (А) и главного корня (Б) облученных семян от дозы гамма-облучения на 7 сутки проращивания

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

Из рис. 1 видно, что длина ростков и корней при действии гамма-излучения в дозе 15 и 20 Гр статистически значимо превышает контрольные значения. Действие гамма-квантов в дозе 50 Гр значимо снижает длину ростков и корней, что свидетельствуют о большом количестве возникших повреждений меристематических клеток зародыша и отражается на способности растений к росту. Полученные данные согласуются с данными других исследований, показавших наличие данного эффекта при облучении злаковых культур гамма-излучением (Казакова Е.А. и др., 2020; Р.С. и др., 2013; Geras'kin S. et al., 2017; Volkova P.Y. et al., 2020). Возможным объяснением стимуляции ростовых

процессов являются изменения в экспрессии генов, которые связаны с фитогормонами (жасмонатом и сигнализацией абсцизовой кислоты (АБК)), антиоксидантной системой (АС), белками позднего эмбриогенеза, компонентами клеточной стенки (Volkova P.Y. et al., 2020).

Результаты изменения длины ростка и главного корня от дозы облучения протонами представлены на рис. 2А и 2Б соответственно.

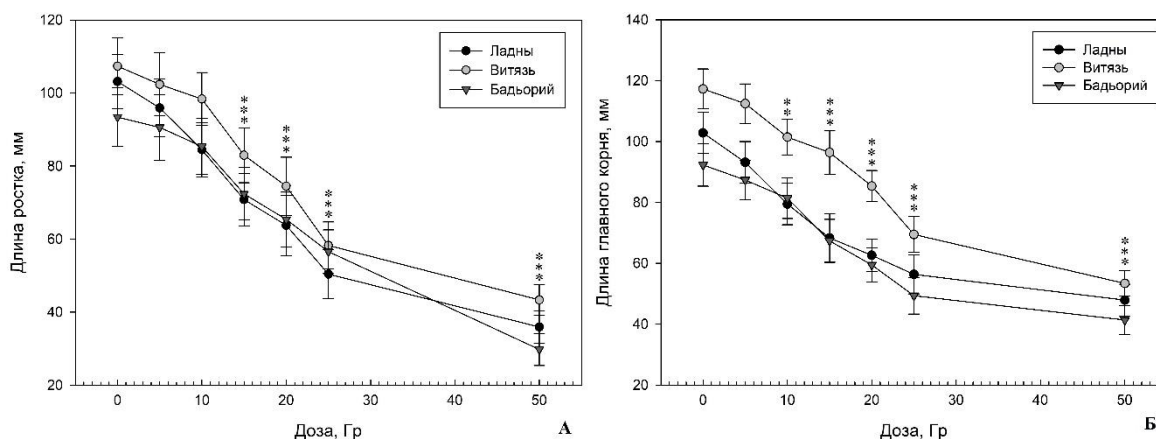


Рисунок 2 – Зависимость длины ростка (А) и главного корня (Б) облученных семян от дозы облучения протонами на 7 сутки проращивания

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

По результатам измерений, уменьшение длины ростка у ячменя трех сортов в исследуемом диапазоне доз, начиная с дозы облучения протонами 15 Гр. Длина главного корня проростков статистически значимо уменьшалась при действии протонного облучения начиная с дозы 10 Гр у сортов Витязь и Ладны, и с 15 Гр у сорта Бад'юрий. Дозозависимое снижение морфологических показателей, наиболее вероятно, связано с прямым действием протонного излучения, которое выражается в повреждении клеточных структур-мишеней.

Облучение ионами ^{12}C в диапазоне доз 1-6 Гр не привело к изменению морфологических показателей у ячменя обыкновенного трех сортов.

Влияния ионизирующего излучения на фотосинтетические пигменты в проростках ячменя обыкновенного

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 (фотосистем I, II и светособирающих комплексов) – хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и каротиноидов под действием ионизирующего излучения (Астахина С.О. и др., 2022). На рис. 3 представлены результаты влияния гамма-облучения на содержание хлорофилла *a* (А) хлорофилла *b* (Б) и каротиноидов (В) в проростках ячменя обыкновенного трех сортов.

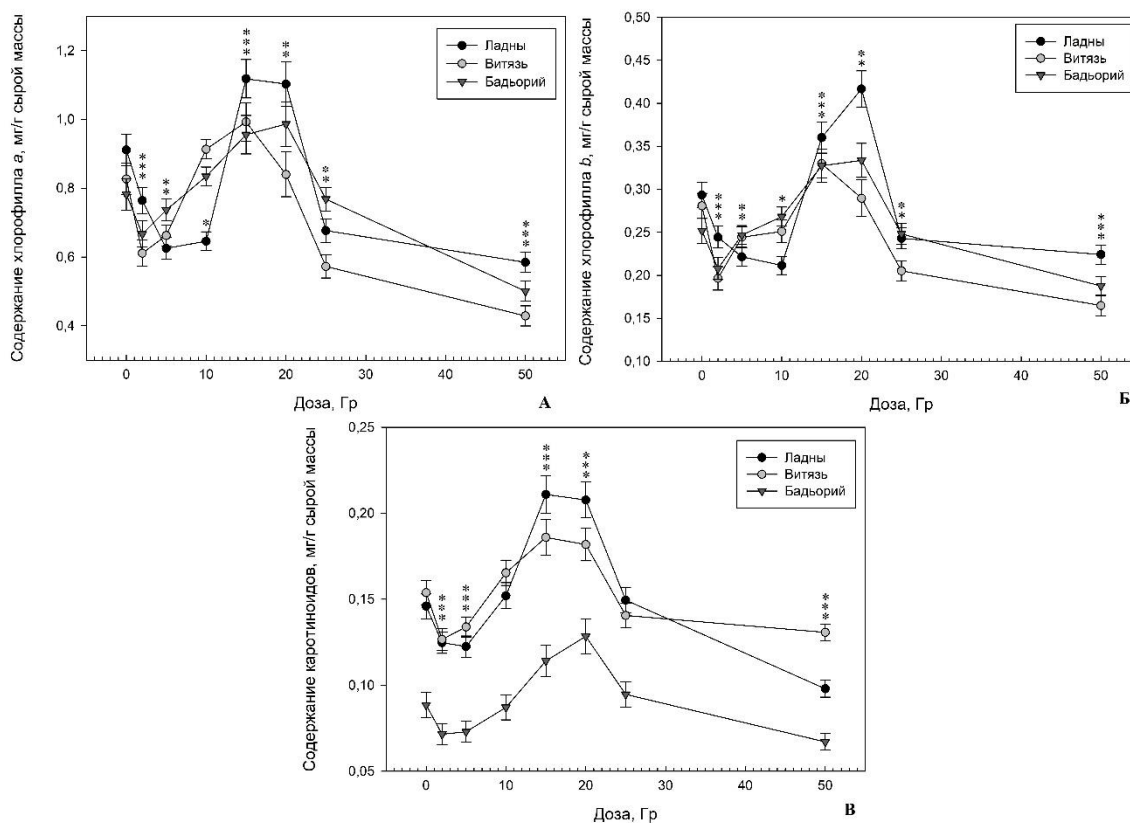


Рисунок 3 – Зависимость содержания хлорофилла *a* (А), хлорофилла *b* (Б) и каротиноидов (В) в мг/г сырой массы от дозы гамма-излучения на 10 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0.05$

Выявлено, что содержание хлорофилла *a* и хлорофилла *b* у пророщенных семян *Hordeum vulgare L.* сорта Ладны снижается при облучении в дозах 2, 5, 10, 25 и 50 Гр. У проростков ячменя сорта Витязь содержание хлорофилла *a* статистически значимо снижается при облучении гамма-квантами в дозах 2, 5, 25 и 50 Гр. Содержание хлорофилла *a* в ростках ячменя сорта Бад'орий снижается при действии гамма-излучения в дозах 2 и 50 Гр. Доза гамма-облучения 15 Гр повышает уровень хлорофилла *a* в проростках ячменя трех сортов, а доза 20 Гр – у сортов Ладны и Бад'орий. У пророщенных семян ячменя наблюдаются схожие результаты воздействия гамма-облучения на концентрацию каротиноидов, как и по содержанию хлорофиллов *a* и *b*. 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.

Снижение фотосинтетических пигментов после облучения гамма-квантами в дозах 2-10 Гр говорит об увеличении количества свободных радикалов, представляя собой важный фактор фенотипической адаптации (Ерофеева Е.А., 2016). 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 *a*, хлорофилл *b* и каротиноиды представлены на рис. 4 А, Б и В соответственно.

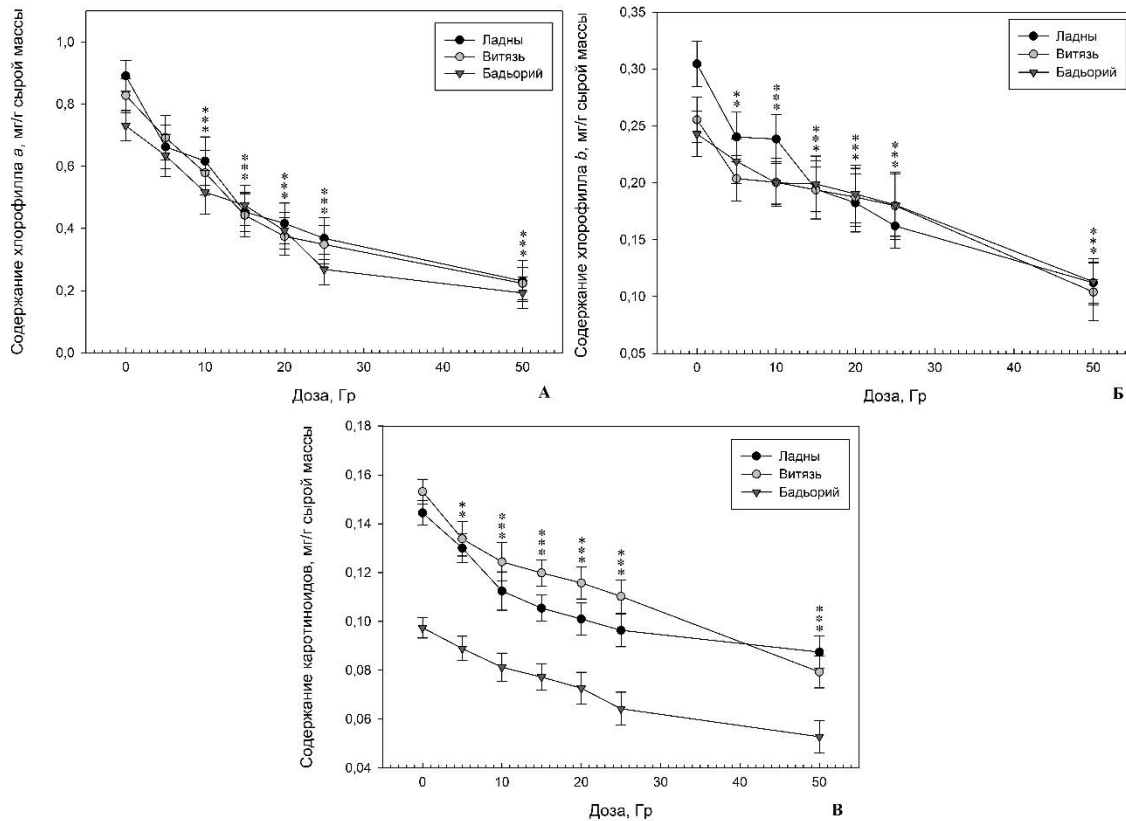


Рисунок 4 – Зависимость содержания хлорофилла *a* (А), хлорофилла *b* (Б) и каротиноидов (В) в мг/г сырой массы от дозы облучения протонами на 10 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0.05$

Установлено, что в отличие от результатов, полученных облучении гамма-квантами, 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. 4А). 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. 4Б). Максимальное снижение уровня фотосинтетических пигментов по сравнению с контрольными значениями наблюдается при дозе облучения протонами 50 Гр. Отличия в эффектах действия гамма-облучения и облучения протонами заключаются в качественном различии двух типов ионизирующего излучения. В случае редкоионизирующего излучения, действие которого главным образом обусловлено образованием активных форм кислорода (АФК), имеет место стимулирующий эффект. Именно 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.

В ходе экспериментальных исследований были выявлены статистически значимые различия в содержании хлорофилла *a* (рис. 5А), хлорофилла *b* (рис. 5Б) и каротиноидов (рис. 5В) в проростках ячменя обыкновенного трех сортов,

появившихся при проращении облученных семян на 10 сутки после облучения тяжелыми ионами ^{12}C .

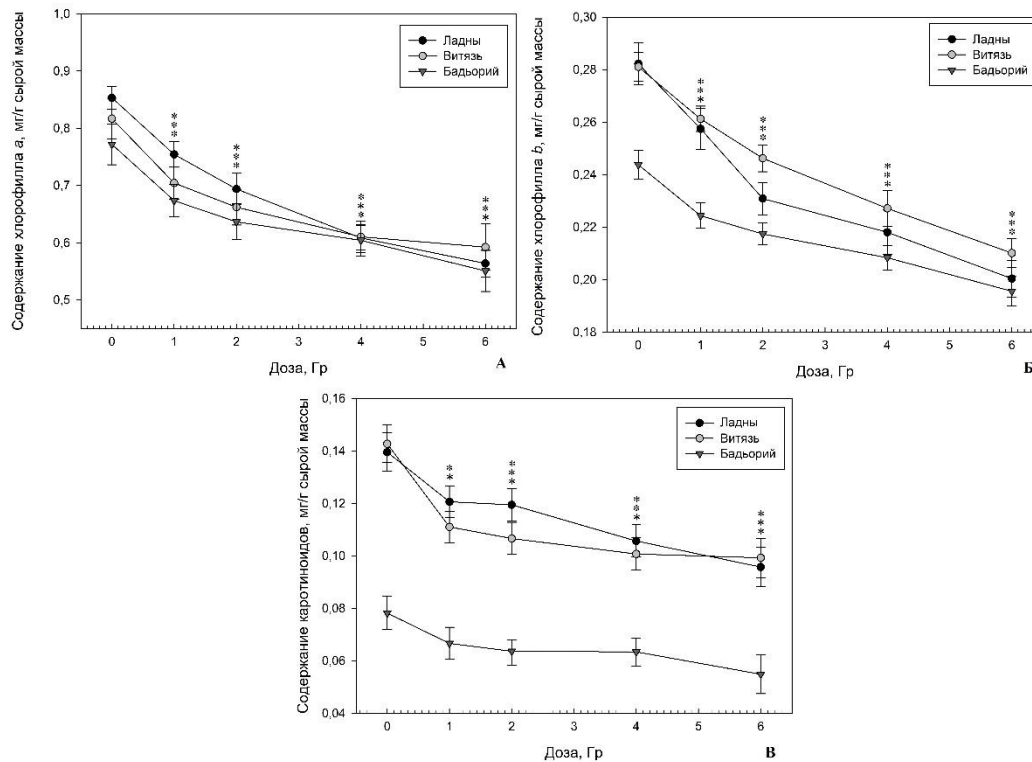


Рисунок 5 – Зависимость содержания хлорофилла а (А), хлорофилла b (Б) и каротиноидов (В) в мг/г сырой массы от дозы облучения ионами ^{12}C на 10 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0.05$

Видно, что максимальное снижение концентраций хлорофиллов *a* и *b* отмечается при дозе облучения ионами ^{12}C 6 Гр. По результатам экспериментов, выявлено, что содержание каротиноидов так же снижается при облучении ионами ^{12}C во всем исследуемом диапазоне доз, за исключением облучения в дозе 1 Гр семян ячменя сорта Бад'орий (рис. 5В).

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. Снижение содержания пигментов после действия плотноионизирующего излучения связывают с их разрушением (высвобождением хлорофилла из его белкового комплекса с последующей дефитолизацией и, возможно, феофитинизацией) с сопутствующей потерей фотосинтетической способности (Marcu D. et al., 2013; Saha P. et al., 2010). 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 (Афони́на С.О. и др., 2024; Волкова П.Ю., 2020; Aly A.A. et al., 2019).

Содержание пролина в растительном материале после действия ионизирующего излучения

Пролин играет важную роль в метаболизме растений, как в качестве превосходного осмолита, так и как хелатор металлов, молекулы антиоксидантной защиты и сигнальной молекулы. 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. На рисунке 6 показана зависимость влияния гамма-облучения (А) и облучения протонами (Б) на содержание свободного пролина в проростках ячменя обыкновенного трех сортов.

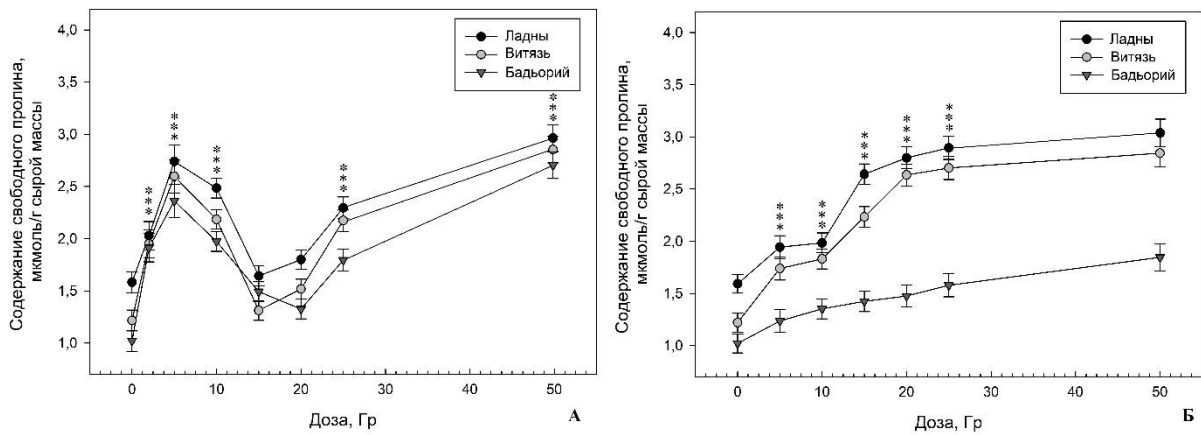


Рисунок 6 – Зависимость содержания свободного пролина (мкмоль/г сырой массы) от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б) на 10 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0.05$

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. 6А). 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.

После облучения протонами отмечено дозозависимое увеличение концентрации свободного пролина в ростках ячменя обыкновенного сортов Витязь и Ладны с дозы облучения 5 Гр. У сорта Бад'орий повышение содержания свободного пролина начинается с дозы облучения протонами 10 Гр (рис. 6Б). Объяснением увеличения концентраций свободного пролина после прямого действия протонного излучения может служить шаперонная функция данной аминокислоты, пролин поддерживает нативную структуру белков при неблагоприятных воздействиях и восстанавливает функциональную активность денатурированных белков (Колупаев Ю.Е. и др., 2014).

Изменений в концентрации свободного пролина у проростков ячменя трех сортов после облучения ионами ^{12}C в дозах 1-6 Гр не выявлено.

Содержание малонового диальдегида в растительном материале после действия ионизирующего излучения

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 (Астахина С.О. и др., 2022; Кияк Н.Я., 2007). На рисунке 7 представлены данные об уровнях содержания МДА в проростках ячменя в зависимости от дозы гамма-излучения.

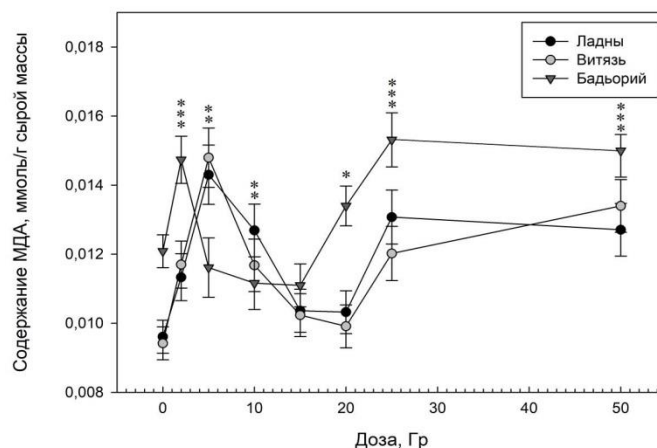


Рисунок 7 – Зависимость содержания МДА (ммоль/г сырой массы) от дозы гамма-облучения на 10 сутки проращивания

* – 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. 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. 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 (Волкова П.Ю. и др., 2019). Кроме того, увеличивается содержание каротиноидов, которые защищают липиды от перекисного окисления за счет нейтрализации свободных кислородных радикалов (Астахина С.О. и др., 2019). Дальнейшее увеличение поглощенной дозы ионизирующего излучения вызывает крупномасштабные повреждения в мембранах, нарушая их функции и повышая содержание МДА. Такая реакция на продукты радиолитиза воды влечет за собой деполяризацию мембранного потенциала со сдвигом рН в кислую сторону, синтез стрессовых белков (Радюкина Н.Л. и др., 2008) и, как показано выше, снижение концентрации хлорофиллов.

В 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, так и в случае действия тяжелых ионов ^{12}C . 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. 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 (Kang R. et al., 2020).

Изменение митотического индекса после действия ионизирующего излучения

Результаты изменения митотического индекса (МИ) от дозы облучения гамма-квантами и протонами представлены на рис. 8А и 8Б соответственно.

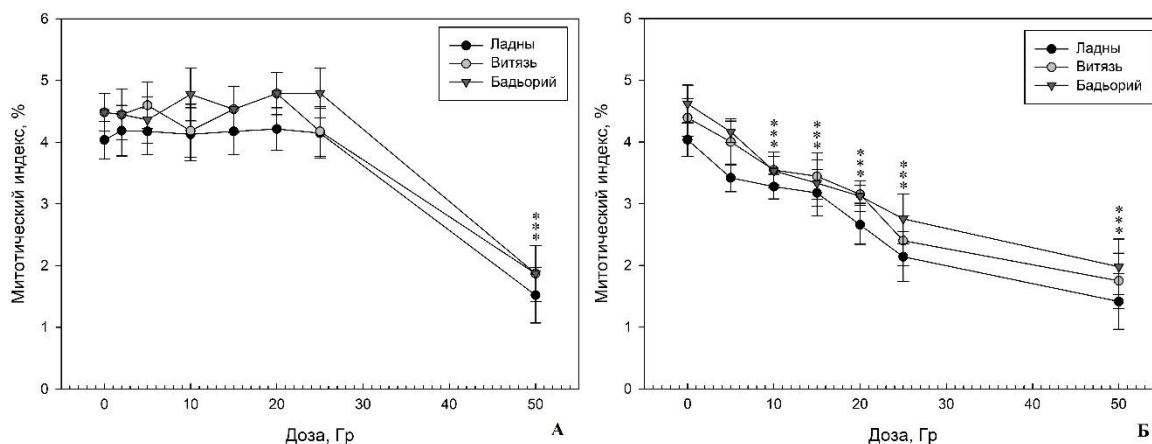


Рисунок 8 – Зависимость митотического индекса в корневой меристеме ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б) на 1 сутки проращивания

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

Видно, что, 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 МИ (рис. 8А). 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.* Данный эффект, в таком случае, обусловлен не увеличением активности клеточного деления клеток в корневой меристеме, а увеличением клеток растяжением (Битаршвили С.В. и

др., 2018; Волкова П.Ю. и др., 2019). Облучение протонами снижает митотический индекс, начиная с дозы облучения 10 Гр. Результаты исследования действия тяжелых ионов ^{12}C на МИ не выявили статистически значимых отличий от контроля при всех рассматриваемых дозах облучения. 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 следствие чего клетки погибали до вступления в митоз.

Частота и спектр цитогенетических нарушений после действия ионизирующего излучения

Результаты влияния облучения разного качества на частоту появления в клетках цитогенетических нарушений представлены на рис. 9. На панели А представлен график влияния гамма-излучения на частоту цитогенетических нарушений, на панели Б – протонного облучения, на панели В – облучение тяжелыми ионами углерода.

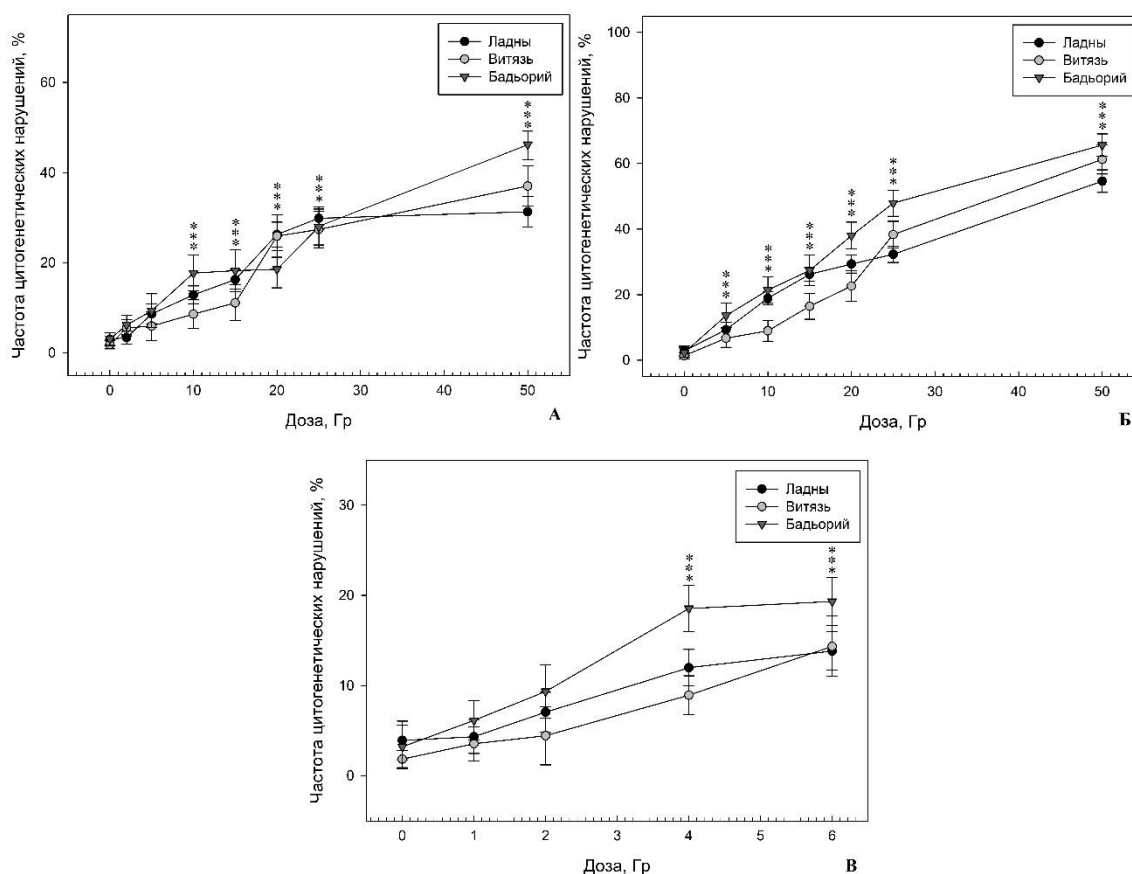


Рисунок 9 – Зависимость частоты цитогенетических нарушений в корневой меристеме ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б), ионами ^{12}C (В) на 1 сутки проращивания

* – 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.

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

Облучение ионами ^{12}C увеличивало частоты цитогенетических нарушений в дозах 4 и 6 Гр, несмотря на то, что митотическая активность не изменялась в изученном диапазоне доз.

Анализ спектра цитогенетических нарушений выявил, что 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%. 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. 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 (Дикарев В.Г. и др., 2018).

Выявлено, что большую часть всех цитогенетических нарушений после облучения протонами 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 после облучения ионами ^{12}C 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%.

Изменение экспрессии генов стрессового ответа после действия ионизирующего излучения

Белок РМ19L регулирует прорастание семян, посредством взаимодействия с сигнальными путями АБК. На рис. 10 представлен график зависимости

относительной экспрессии гена *HORVU5HrlG125450*, кодирующего мембранный белок PM19L в зародышах ячменя, от дозы облучения гамма-квантами (А), протонами (Б), ионами ^{12}C (В) на 1 сутки проращивания. Видно, что на первые сутки проращивания статистически значимо усиливается транскрипционная активность гена *HORVU5HrlG125450* при гамма-облучении в дозах 15, 20, 25 и 50 Гр (рис. 10А). 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. Повышение экспрессии гена, кодирующего рассматриваемый мембранный белок при облучении в дозах 25 и 50 Гр на 1 сутки может свидетельствовать об участии данного белка и в других физиологических процессах, не связанных с АБК. Стоит отметить, что на 1 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 *HORVU5HrlG125450* в качестве кандидата радиационной стимуляции (Gorbatova I.V. et al., 2020), однако, только на 1 сутки проращивания.

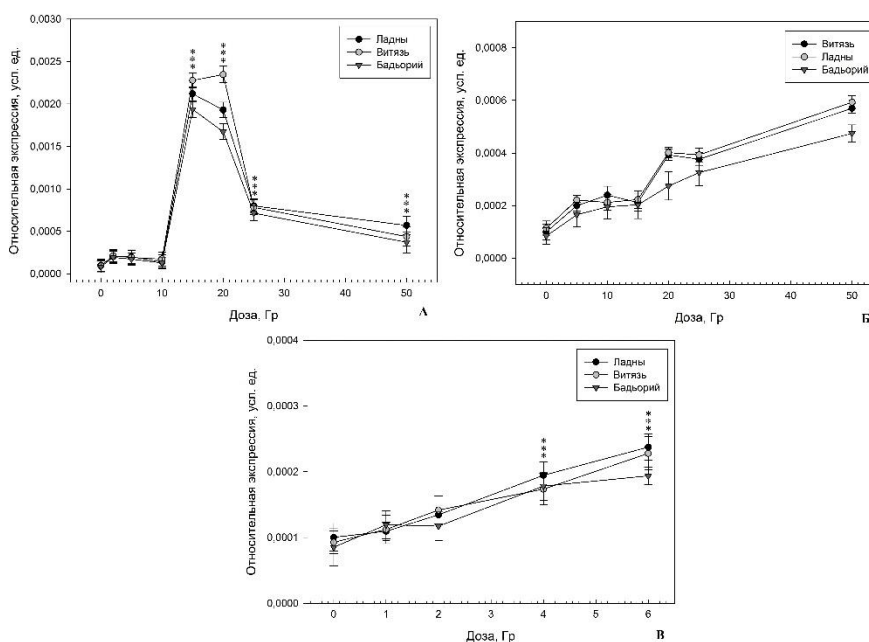


Рисунок 10 – Зависимость относительной экспрессии гена *HORVU5HrlG125450*, кодирующего мембранный белок PM19L в зародышах ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б), облучения ионами ^{12}C (В) на 1 сутки проращивания

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

При всех исследуемых дозах облучения протонами у сортов Витязь и Ладны происходит увеличение экспрессии гена, кодирующего мембранный белок PM19L, у сорта Бад'орский – начиная с облучения в дозе 10 Гр. Самая активная экспрессия наблюдается при дозе протонного облучения 50 Гр (рис. 10Б). Облучение ионами углерода в дозах 4 и 6 Гр статистически значимо повышала уровень экспрессии гена, кодирующего белок PM19L (рис. 10В).

К седьмым суткам проращивания экспрессия гена *HORVU5HrIG125450* в ростках (рис. 11) и корнях (рис. 12) у разных сортов неодинакова.

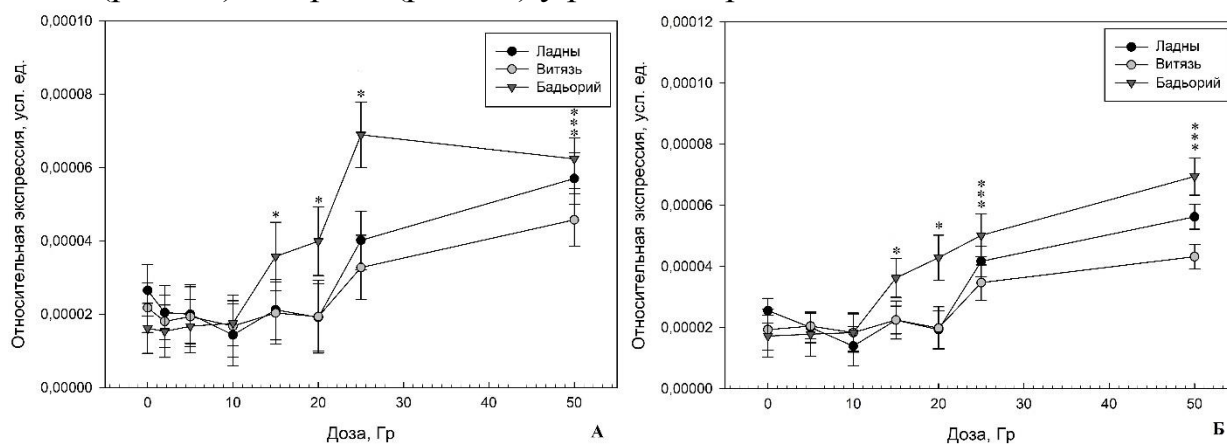


Рисунок 11 – Зависимость относительной экспрессии гена *HORVU5HrIG125450*, кодирующего мембранный белок PM19L в ростках ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б) на 7 сутки проращивания

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

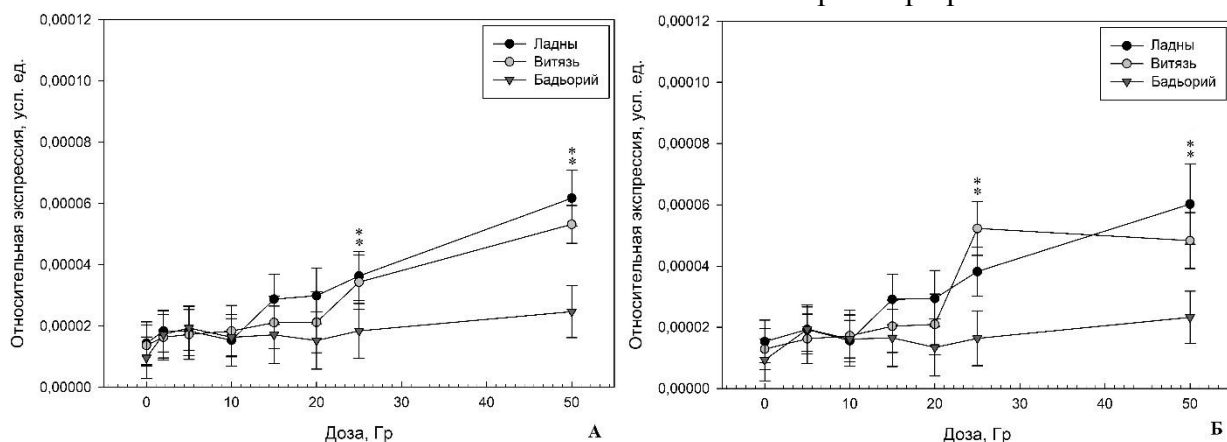


Рисунок 12 – Зависимость относительной экспрессии гена *HORVU5HrIG125450*, кодирующего мембранный белок PM19L в корнях ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б) на 7 сутки проращивания

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

Видно, что только у сорта Бад'юрий (рис. 11А) наблюдалась повышенная экспрессия рассматриваемого гена в ростках на 7-ые сутки проращивания после гамма-облучения в дозах 15 Гр и выше. У сортов Ладны и Витязь повышение экспрессии гена после облучения гамма-квантами отмечалось в дозе 50 Гр. Из данных, представленных на рис. 11Б, видно, что увеличение экспрессии гена, кодирующего белок PM19L, в ростках ячменя сорта Бад'юрий происходит при дозах облучения протонами 15-50 Гр, у сорта Витязь и Ладны – 25 и 50 Гр. Облучение протонами в рассматриваемом диапазоне доз не влияет на уровень транскрипционной активности гена *HORVU5HrIG125450* в корнях ячменя сорта Бад'юрий (рис. 12Б), как и в случае гамма-облучения (рис. 12А). Повышение экспрессии исследуемого гена в корнях сортов Витязь и Ладны происходит после облучения гамма-квантами и протонами в дозах 25 и 50 Гр (рис. 12А и 12Б соответственно).

Исследование влияния облучения тяжелыми ионами углерода на экспрессию гена, кодирующего мембранный белок РМ19L, в ростках и корнях ячменя на 7-ые сутки проращивания не выявило изменений уровней транскрипционной активности рассматриваемого гена.

На рис. 13 представлены результаты исследования влияния гамма-излучения (А) и облучения протонами (Б) на уровень транскрипционной активности гена *HORVU2Hr1G057880*, кодирующего пролил-тРНК-синтетазу, в зародышах ячменя на 1-ые сутки проращивания.

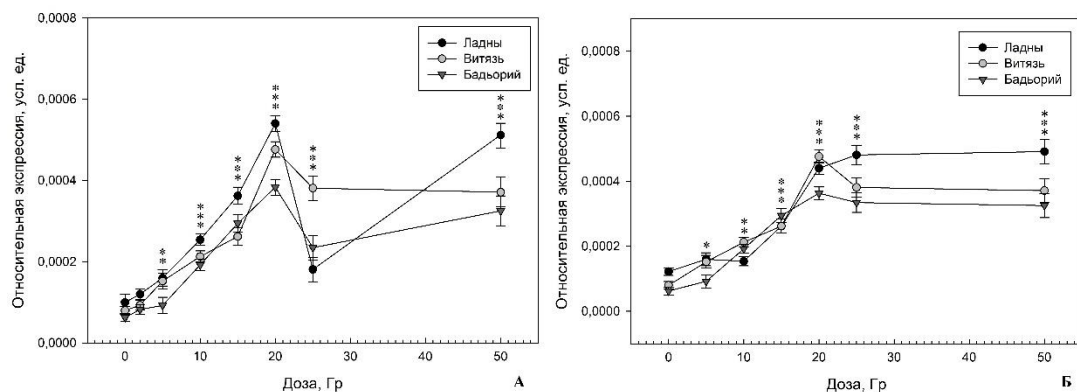


Рисунок 13 – Зависимость относительной экспрессии гена *HORVU2Hr1G057880*, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в зародышах ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б) на 1 сутки проращивания

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

Изменение экспрессии гена *HORVU2Hr1G057880* в зародышах ячменя происходит при всех дозах гамма-облучения, за исключением дозы 2 Гр у сортов Витязь и Ладны, а также 2 и 5 Гр у сорта Бад'орий (рис. 13А). 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. 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 Бад'орий, 15, 20, 25 и 50 Гр – для сорта Ладны (рис. 13Б).

Графики зависимостей относительной экспрессии гена *HORVU2Hr1G057880*, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в ростках ячменя от дозы облучения гамма-квантами (панель А) и протонами (панель Б) представлены на рис. 14. Уровни транскрипционной активности гена *HORVU2Hr1G057880* в корнях после действия гамма-облучения (панель А) и протонов (панель Б) представлены на рис. 15.

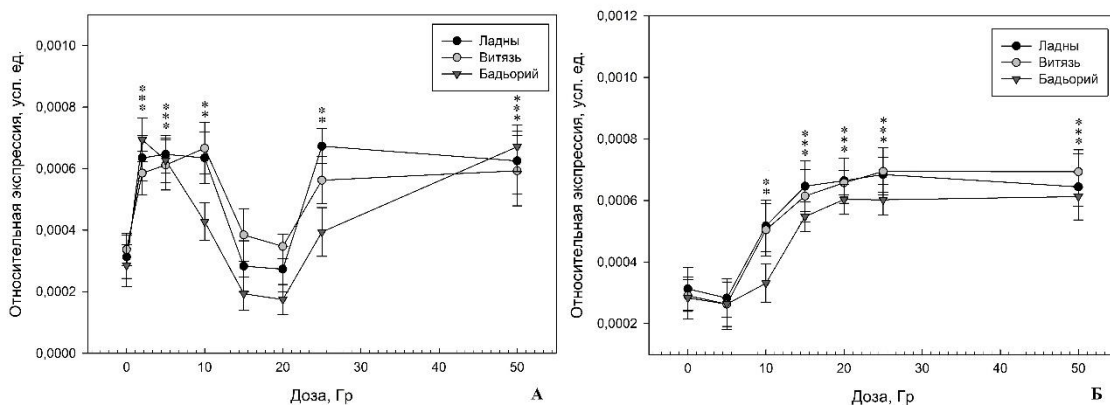


Рисунок 14 – Зависимость относительной экспрессии гена *HORVU2Hr1G057880*, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в ростках ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б) на 7 сутки проращивания

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

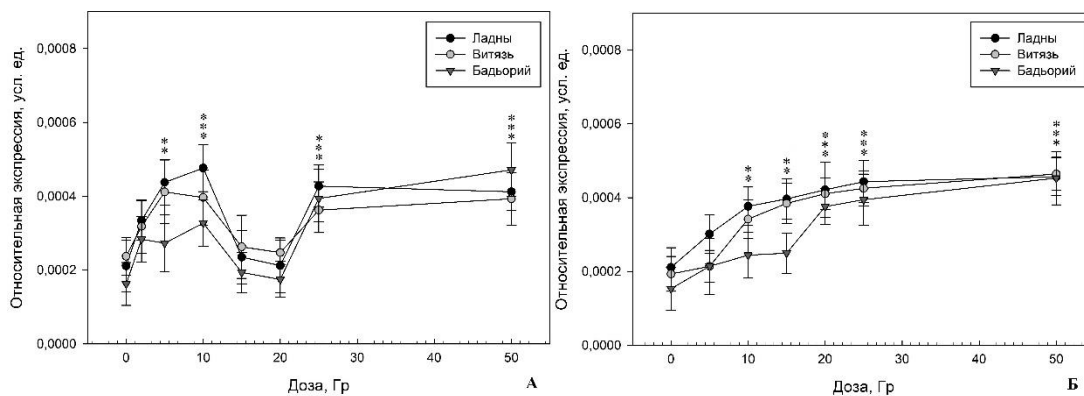


Рисунок 15 – Зависимость относительной экспрессии гена *HORVU2Hr1G057880*, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, в корнях ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б) на 7 сутки проращивания

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

На седьмые сутки проращивания в ростках ячменя транскрипционная активность гена *HORVU2Hr1G057880*, кодирующего пролил-тРНК синтетазу, статистически значимо усиливается после гамма-облучения в дозах 2, 5, 10, 25, 50 Гр у сортов Витязь и Ладны, и при облучении в дозах 2, 5, 50 Гр у сорта Бад'орий (рис. 14А). При протонном облучении в дозах 5 и 10 Гр не происходит достоверного изменения уровня транскрипционной активности данного гена в ростках ячменя у сорта Бад'орий, после облучении в дозе 5 Гр – у сортов Витязь и Ладны (рис. 14Б).

Относительная экспрессия гена, кодирующего пролил тРНК-синтетазу в корнях ячменя, выше после облучения в дозах 5, 10, 25 и 50 Гр у сортов Витязь и Ладны, у сорта Бад'орий – после воздействия гамма-квантами в дозах 10, 25 и 50 Гр (рис. 15А). 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 Бад'орий – начиная с облучения в дозе 20 Гр (рис. 15Б).

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 рис. 16 представлены данные изменения экспрессии гена *HORVU2Hr1G040780*, кодирующего хлорофилл аб-связывающий белок ЛНСII типа III, после облучения гамма-квантами (панель А), протонами (панель Б) и ионами ^{12}C (панель В) в ростках на 7-ые сутки проращивания. Выявлено, что на 7-ые сутки повышается экспрессия гена, кодирующего хлорофилл аб-связывающий белок ЛНСII 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. Усиление экспрессии гена *HORVU2Hr1G040780* после облучения гамма-квантами может говорить о том, что повышение содержания фотосинтетических пигментов связано с увеличением количества ЛНС белков.

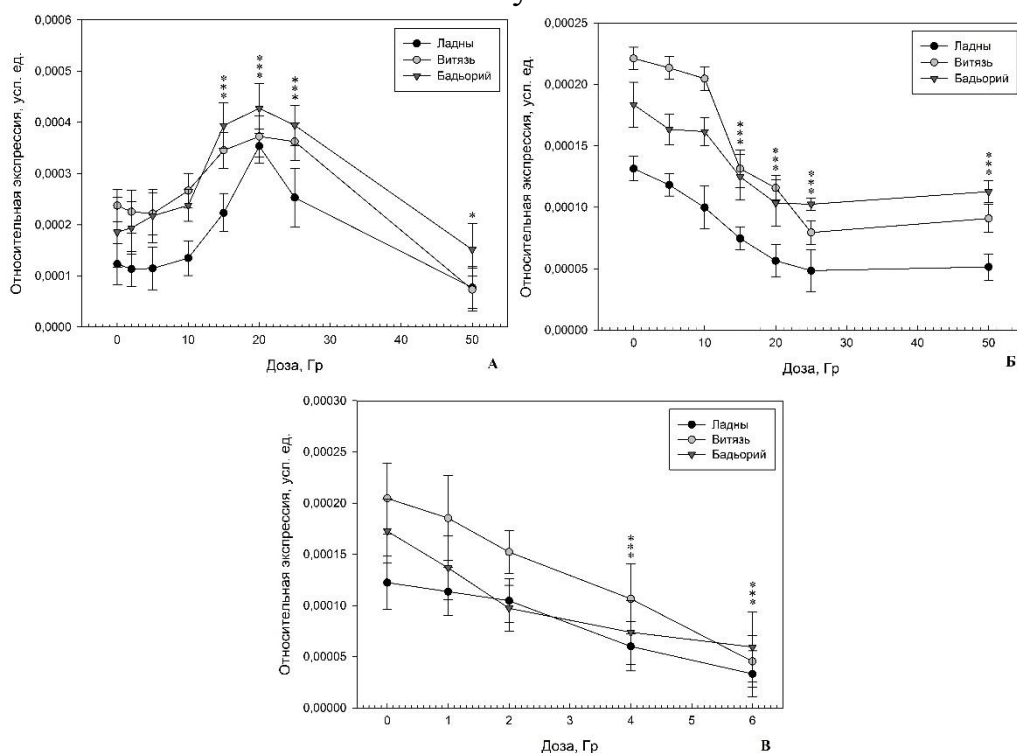


Рисунок 16 – Зависимость относительной экспрессии гена *HORVU2Hr1G040780*, кодирующего хлорофилл аб-связывающий белок ЛНСII типа III, в ростках ячменя от дозы гамма-облучения (А), облучения протонами (Б), облучения ионами ^{12}C (В) на 7 сутки проращивания
* – статистически значимое отличие от контроля при $p < 0.05$

Из данных, представленных на рис. 16Б, выявлено, что облучение протонами в дозах 15-50 Гр статистически значимо снижают транскрипционную активность исследуемого гена для всех трех сортов ячменя. Снижение транскрипционной активности гена *HORVU2Hr1G040780* происходит после облучения ионами ^{12}C в дозах 4 и 6 Гр (рис. 16В). Объяснение данного феномена возможно за счет разрушения молекул хлорофилла и/или нарушения его скорости синтеза и катаболизма.

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 в дозах 15 и 20 Гр, который 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 ЛНС. 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 ЛНСII типа III, и накоплению свободного пролина, цитогенетических нарушений, усилению экспрессии генов, кодирующих PM19L, пролил тРНК синтетазу.

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 ЛНСII 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 ответная реакция 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 ростка 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 *a* 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 *a* 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 содержания 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 РМ19L, 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 РМ19L, 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 РМ19L, 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 ЛНСII 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 работ, опубликованных по теме диссертации

В журналах, рекомендованных ВАК, и международных изданиях, входящих в базу Scopus и Web of science

1. 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. – DOI 10.26583/npe.2024.3.13. – EDN JLDTCT.
2. 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. – DOI 10.31857/S0869803124010052. – EDN NNOКHK.
3. Афонина, С.О. Влияние гамма-излучения на содержание свободного пролина и малонового диальдегида в проростках ячменя обыкновенного / С.О. Афонина, Л.Н. Комарова, М.М. Рассказова, Г.А. Атамановская, А.Н. Павлов // Радиация и риск (Бюллетень Национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2024. – Т. 33, № 2. – С. 98-105. – DOI 10.21870/0131-3878-2024-33-2-98-105. – EDN OWAKIR.
4. Атамановская, Г.А. Эффекты гамма-излучения на морфометрические и цитогенетические параметры ячменя обыкновенного / Г.А. Атамановская, С.О. Астахина, Л.Н. Комарова, А.Н. Павлов, Т.В. Чиж // Ядерная физика и инжиниринг. – 2025. – Т. 16, № 2. – С. 233-236. – DOI 10.56304/S2079562924050038. – EDN BRYBWD.
5. Afonina, S.O. Assessment of Radiobiological Effects of γ -Irradiation of Barley Seeds *Hordeum vulgare* L. / S.O. Afonina, L.N. Komarova, M.M. Rasskazova // Biology Bulletin. – 2024. – Vol. 51, No. 11. – P. 3597-3601. – DOI 10.1134/S1062359024701280. – EDN IYLIWX.

Учебные пособия

1. Радиобиология: в трех частях. Часть 1: Введение в радиобиологию / 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 LGJQSW.
2. Радиобиология: в трех частях. Часть 2: Основы биологического действия ионизирующих излучений / 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 978-5-7262-3132-7.
3. Радиобиология: в трех частях. Часть 3: Глоссарий / 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 978-5-7262-3133-4. – EDN GSLTUL.