

Гринберг Марина Антоновна

Влияние хронического облучения на электрические сигналы растений и их роль в формировании устойчивости к стресс-факторам

1.5.2 – биофизика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Нижний Новгород – 2023

Работа выполнена на базе кафедры биофизики Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского»

Научный руководитель: **Воденев Владимир Анатольевич,**
доктор биологических наук, доцент, заведующий кафедрой биофизики Института биологии и биомедицины ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского»

Официальные оппоненты: **Позолотина Вера Николаевна,**
доктора биологических наук, профессор, заведующая лабораторией популяционной радиобиологии ФГБУН Института экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук
Медведев Сергей Семенович,
доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии и биохимии растений биологического факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Ведущая организация: ФГБУН Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук

Защита диссертации состоится «16» ноября 2023 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.340.06 при Нижегородском государственном университете им. Н. И. Лобачевского по адресу: 603022, г. Нижний Новгород, проспект Гагарина, д. 23, корпус 1.

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке Нижегородского государственного университета им. Н. И. Лобачевского и на сайте <https://diss.unn.ru/files/2023/1383/diss-Grinberg-1383.pdf>

Автореферат разослан «__» _____ 2023 года

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Черкасова Елена Игоревна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Ионизирующее излучение (ИИ) является постоянно действующим фактором, который непрерывно оказывает влияние на биоту. В ряде условий живые организмы могут подвергаться влиянию повышенного уровня облучения: от загрязнённых радионуклидами территорий до перспективных космических систем жизнеобеспечения (Geras'kin, 2016; Baranova et al., 2019; Pozolotina et al., 2023). Механизмы влияния ИИ на живые организмы, в том числе растения, являются предметом интенсивных исследований. Влияние ИИ на растения характеризуется сложной дозово-временной зависимостью. Общепринято, что высокие дозы ИИ подавляют рост и развитие растений, а низкие, напротив, обладают стимулирующим действием. Установлено, что угнетение роста и развития растений высокими дозами ИИ связано с подавлением активности фотосинтеза, транспорта ассимилятов, снижением содержания пигментов, угнетением биосинтеза ключевых метаболитов, торможением клеточного цикла и с другими нарушениями. Подавление физиологических процессов вызвано, главным образом, окислительным стрессом и многочисленными генетическими повреждениями (De Micco et al., 2011; Gudkov et al., 2019). Стимулирующий эффект малых доз ИИ проявляется в увеличении морфометрических параметров и активации ряда физиологических процессов, в первую очередь, фотосинтеза (Caplin, Willey, 2018; Volkova et al., 2022). Механизмы такого влияния на сегодняшний день остаются малоизученными. Наибольший пробел имеет место в области понимания того, как изменяются адаптивные реакции растений к неблагоприятным факторам окружающей среды (таким как гипо- и гипертермия, недостаточная влажность и др.) в условиях хронического облучения, и каковы механизмы, лежащие в основе таких изменений (Geras'kin et al., 2017; Pozolotina, Antonova, 2017; Wang et al., 2018).

Известно, что в адаптации растений к стрессорам важную роль играют дистанционные сигналы, обеспечивающие скоординированное изменение активности целого ряда физиологических процессов, направленное на повышение устойчивости (Szechynska-Hebda et al., 2017; Zandalinas et al., 2018; Sukhov et al., 2019). Одним из типов значимых сигналов, возникающих в ответ на быстрос нарастающие стрессоры, являются электрические сигналы. Сопровождающие их сдвиги концентраций ионов и величины рН являются важнейшим этапом активации соответствующих внутриклеточных сигнальных систем, которые участвуют в запуске системного ответа растения, вызванного дистанционным сигналом (Baluška, 2013; Vodeneev et al., 2017; Chatterjee et al., 2018; Demidchik et al., 2018). На сегодняшний день сведения о влиянии хронического ИИ на адаптацию растений к другим стрессовым факторам являются фрагментарными, а исследования роли дистанционных стрессовых сигналов в развитии адаптации в условиях повышенного радиационного фона отсутствуют. В мировой литературе имеются только фрагментарные сведения о влиянии ИИ на некоторые компоненты внутриклеточных сигнальных систем растений: АФК, кальциевой, гормональной (Latif et al., 2011; Kim et al., 2012; Goh et al., 2014; Sevriukova et al., 2014; Qi et al., 2015; Bitarishvili et al., 2018; Xie et al., 2019; Huang et al., 2022). Между тем, имеются основания полагать, что сигнальные системы растений, включая дистанционные стрессовые сигналы, обладают большей радиочувствительностью в сравнении с базовыми физиологическими процессами, и уже в диапазоне малых доз ИИ может иметь место модификация их параметров (Grinberg et al., 2021). Это может повлечь нарушение адаптации растений к изменяющимся условиям среды, развитие которой требует слаженной работы внутриклеточных и межклеточных сигнальных систем.

Цель и задачи исследования

Целью работы является изучение влияния хронического облучения в малых дозах на электрические сигналы и их роли в формировании устойчивости к стресс-факторам у растений.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи.

1. Изучение влияния ИИ на морфофункциональное состояние растений в покое.
2. Анализ влияния ИИ на параметры вызванных дополнительным стрессовым фактором электрических сигналов и сопровождающих их функциональных ответов.
3. Анализ механизмов влияния ИИ на электрические сигналы и вызываемые ими функциональные ответы.
4. Изучение эффекта, оказываемого ИИ на формирование вызываемой электрическими сигналами устойчивости к тепловому стрессу.

Научная новизна

Обнаружено, что ИИ с низкой мощностью дозы может влиять на параметры дистанционных электрических сигналов растений и вызываемых ими функциональных ответов. Впервые показано, что эффекты, оказываемые ИИ на сигналы и вызванные ими ответы, обуславливают изменение устойчивости к стрессорам. Обнаружено, что в основе эффектов ИИ может лежать изменение активности внутриклеточных ионтранспортирующих и сигнально-регуляторных систем, включая систему поддержания рН.

Научно-практическая значимость

Результаты диссертационного исследования вносят значительный вклад в построение целостной картины влияния хронического ИИ на адаптацию растений к действию неблагоприятных абиотических факторов среды. Полученные результаты могут быть использованы для прикладных разработок по организации работ на территориях с повышенным радиационным фоном, а также для планирования работ в рамках создания искусственных экосистем для космических миссий. Результаты и выводы диссертационного исследования будут использованы в учебном процессе при разработке спецкурсов для студентов и аспирантов биологического профиля.

Основные положения, выносимые на защиту

ИИ с низкой мощностью дозы усиливают дистанционные стрессовые электрические сигналы и вызываемые ими функциональные ответы у растений. Такие изменения параметров нарушают формирование устойчивости к абиотическим факторам среды (к тепловому стрессу). Определяющий вклад в эффектах, оказываемых ИИ на формирование индуцированной сигналами устойчивости, имеет стадия преобразования сигнала в ответ.

Личный вклад автора

Автор лично участвовал в проведении экспериментальных исследований, обработке полученных результатов, анализе и обсуждении результатов, а также принимал участие в написании научных статей совместно с соавторами и апробации результатов исследований на научных конференциях.

Достоверность научных результатов

Достоверность научных результатов подтверждается воспроизводимостью экспериментальных данных и обусловлена широкой апробацией и надёжностью использованных экспериментальных методов исследования, а также качественной и количественной согласованностью полученных данных с результатами независимых исследований других авторов.

Апробация работы

Основные результаты работы представлялись на международных и всероссийских мероприятиях: Всероссийская с международным участием школа-конференция молодых учёных «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2017), Международная научная конференция «Актуальные вопросы биологической физики и химии» (Севастополь, 2018), Международная Пущинская школа-конференция молодых учёных «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2018), Съезд биофизиков России (Сочи, 2019; Краснодар, 2023), Международная научно-практическая конференция «Ядерно-физические исследования и технологии в сельском хозяйстве» (Обнинск, 2020), Съезд по радиационным исследованиям (Москва, 2021), Международная молодежная конференция «Современные проблемы радиобиологии, радиэкологии и агроэкологии» (Обнинск, 2021), Годичное собрание Общества физиологов растений России (Нижний Новгород, 2022), Всероссийская научная конференция Национального центра физики и математики (НЦФМ) по лабораторной астрофизике и геофизике (Саров, 2023).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 13 работ, включая 4 статьи в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus), входящих в список ВАК.

Структура и объем диссертации

Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследований, результатов и их обсуждения, заключения, выводов, списка литературы. Объем составляет 106 страниц машинописного текста, иллюстрированного 27 рисунками. Список литературы включает 216 источников, в том числе 213 работ иностранных авторов.

Благодарности

Диссертационное исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, проект № 075-15-2019-1892 и проект Национального центра физики и математики (НЦФМ) «Экспериментальная лабораторная астрофизика и геофизика».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В **главе 1** представлен обзор литературы, посвященный рассмотрению общих принципов влияния ИИ на состояние растений,

В **главе 2** перечислены использованные в работе объекты исследования, материалы и оборудование, описаны методики исследований.

Объектами исследования служили растения пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) и растения табака (*Nicotiana tabacum* L.) сорта Samsun, конститутивно экспрессирующие флуоресцентный ратиометрический pH-чувствительный белок Pt-GFP. Растения выращивались при фотопериоде 16/8 (свет/темнота) при температуре 24 °С. Облучение производилось закрытым точечным источником ^{90}Sr - ^{90}Y (β -излучатель) на протяжении всего периода выращивания растений (рис. 1). Мощность дозы источника составляла 31,3 мкГр/час. Суммарная накопленная доза у растений пшеницы составляла около 11 мГр, у растений табака – около 32 мГр. Контрольные растения выращивались в аналогичных условиях в отсутствии источника ИИ.



Рисунок 1. Выращивание растений пшеницы в контроле (слева) и в условиях облучения (справа)

Морфометрические показатели определялись по длине, площади листьев, сырому и сухому весу растений.

Измерение параметров электрогенеза. Измерение мембранного потенциала производилось при помощи электрофизиологической установки SliceScope Pro 2000 (Scientifica, Великобритания). Микропипетки изготавливались на пуллере P-97 (Sutter Instrument, США). Введение микропипетки в клетку осуществлялось при помощи моторизированных манипуляторов PatchStar под визуальным контролем. Измерения производились в паренхимных клетках, окружающих жилки. Данные обрабатывались усилителем Multiclamp 700B, и системой сбора данных Digidata1550. Внеклеточная регистрация электрической активности осуществлялась при помощи Ag^+/AgCl макроэлектродов и многоканальной системы для измерения биопотенциалов и ионных токов Мультитест ИПЛ-113 (Семико, Россия). Измерения производились в молодом полностью развитом листе (2-й лист у пшеницы и 5-6 лист у табака). Вариабельный потенциал (ВП) индуцировался постепенным нагревом кончика листа в кювете с водой (для пшеницы) или посредством резистора (для табака). Регистрация параметров ВП осуществлялась на стимулируемом листе на различном расстоянии от зоны раздражения (Yudina et al., 2020).

Измерение параметров фотосинтеза и устьичной проводимости. Для регистрации параметров фотосинтеза и уровня устьичной проводимости использовался инфракрасный газоанализатор GFS-3000 и РАМ-флуориметр Dual-PAM-100 с измерительной головкой Dual-PAM gas-exchange Cuvette 3010-Dual (Heinz Walz GmbH, Германия). Расчёт параметров квантового выхода фотохимических реакций фотосистемы I (Φ_{PSI}) и фотосистемы II (Φ_{PSII}) и нефотохимического тушения флуоресценции (NPQ) производился встроенным программным обеспечением прибора (Maxwell and Johnson, 2000). Плотность фотонного потока актиничного света (460 нм) составляла $239 \mu\text{моль м}^{-2} \text{с}^{-1}$. Концентрация CO_2 в измерительной кювете поддерживалась на уровне $360 \mu\text{моль моль}^{-1}$, температура 23°C , относительная влажность 60%. В ходе эксперимента также производилась запись ответа фотосинтетических показателей и устьичной проводимости на ВП, индуцированный нагревом кончика листа.

Пространственно-временное картирование параметров фотосинтеза. Для регистрации пространственно-временных характеристик ответа Φ_{PSII} на ВП у растений табака использовался РАМ-флуориметр Imaging-PAM MINI (Heinz Walz GmbH, Германия). Плотность фотонного потока актиничного света (480 нм) составляла $223 \mu\text{моль м}^{-2} \text{с}^{-1}$. Размер анализируемой области составлял 3×4 см. Анализ изображений выполнялся в программе ImageJ по следующему алгоритму: 1) для каждой записи усреднялось по 3 кадра до прохождения ВП («начальный уровень»), 2) вычислялась разность между начальным уровнем Φ_{PSII} и каждым из кадров

динамики («разность»), 3) на каждом кадре разности определялась площадь листа, на которой величина отклонения от начального уровня превышала пороговый уровень, который составлял 0,05 отн. ед. Φ_{PSII} .

Измерение устойчивости к тепловому стрессу. Устойчивость к тепловому стрессу определялась у растений пшеницы по сохранности фотосинтетических показателей после прогрева (45 мин при температуре 50°C) (Yudina et al., 2020). Для регистрации уровня фотосинтетической активности использовался РАМ-флуориметр Imaging-PAM MINI. Схема эксперимента приведена на рисунке в главе 2.

Измерение внутриклеточного рН. Величина рН оценивалась у растений табака по уровню флуоресценции генетически кодируемого ратиометрического рН-чувствительного сенсора Pt-GFP (Ageyeva et al., 2022; Pecherina et al., 2022). Флуоресцентные изображения и спектры флуоресценции белка были получены с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM710 (Carl Zeiss, Германия). Уровень рН измерялся по величине отношения флуоресценции Pt-GFP ($\lambda_{em} - 505-525$ нм) при возбуждении на 488 и 405 нм ($ratio_{488/405}$). Флуоресцентные изображения анализировались в программах Zen 2.1 (Carl Zeiss) и ImageJ. Перевод $ratio_{488/405}$ в рН был выполнен в соответствии с калибровкой в диапазоне рН 5,5-7,5.

Регистрация рН на уровне целого растения. Измерения сдвигов рН, вызванных ВП, на уровне целого растения проводились при помощи установки флуоресцентного имиджинга DVS-03 (ИПЛИТ РАН, Россия). Уровень рН измерялся по величине отношения флуоресценции Pt-GFP ($\lambda_{em} - 535/43$ нм) при возбуждении на 490 и 395 нм ($ratio_{490/395}$). Перевод $ratio_{490/395}$ в рН был выполнен в соответствии с калибровкой в диапазоне рН 5-8 (Ageyeva et al., 2022; Pecherina et al., 2022).

Статистическая обработка. Для каждого эксперимента использовалось 6 – 30 растений, каждая повторность выполнялась на отдельном растении. Для каждой совокупности вычислялись среднее значение и ошибка среднего. Данные проверялись на нормальное распределение, достоверность различий оценивалась по t-критерию Стьюдента. Уровень статистической значимости был установлен при $p < 0,05$. Корреляции определялись по коэффициенту корреляции Пирсона.

Глава 3 содержит изложение и обсуждение результатов исследования влияния ИИ на морфофункциональное состояние растений в покое.

Первым шагом в нашей работе рассматривалось влияние ИИ на состояние организма в отсутствие других стрессоров (в покое). Хроническое облучение, как постоянно действующий фактор, определяет долговременный статус растений и служит основой для формирования у них ответа на изменение условий среды. Интегральное состояние растений может быть оценено по морфометрическим показателям. Активность физиологических процессов, таких как фотосинтез и транспирация, выступают в роли основных механизмов, определяющих изменение морфометрических показателей при действии различных факторов среды.

Влияние ИИ на морфометрические показатели

В ходе регистрации морфометрических показателей облучённых и контрольных растений было показано некоторое увеличение ряда показателей под влиянием ИИ. У растений пшеницы зарегистрировано статистически значимое увеличение сухого веса 2-го листа, который был использован для регистрации физиологических показателей. У облучённых растений табака статистически значимо возрастала площадь листьев, сырой и сухой вес растений (рис. 2).

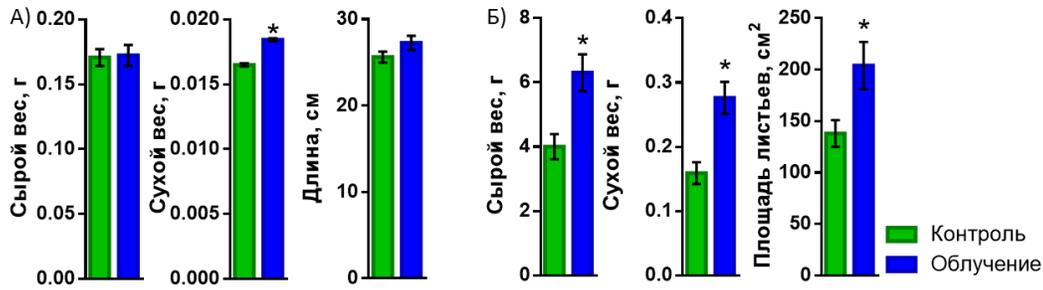


Рисунок 2. Влияние ИИ на морфометрические показатели пшеницы (А) и табака (Б). * – $p < 0,05$

Известно, что ответ живых организмов на облучение зависит от величины и мощности дозы. Как правило, малые дозы ИИ не оказывают выраженного эффекта или ведут к некоторому повышению морфометрических показателей, а высокие дозы ведут к ингибированию роста и развития растений. В нашей работе использовались хроническое облучение с низкой мощностью дозы. Зарегистрированная для ряда показателей радиационно-индуцированная стимуляция соответствует данным литературы.

Влияние ИИ на активность физиологических процессов

Для анализа механизмов влияния ИИ на рост растений регистрировалась величина фотосинтетических показателей, уровень транспирации и величина мембранного потенциала. ИИ вызывало некоторое возрастание активности фотосинтетических процессов. У растений пшеницы показано увеличение уровня ассимиляции CO_2 (А) (рис. 3) – интегрального показателя фотосинтеза. Для растений табака также показана тенденция к увеличению активности ассимиляции CO_2 под действием ИИ, однако статистически значимые различия отсутствовали (рис. 2). Также у табака облучение вызывало достоверное возрастание Φ_{PSII} (рис. 3).

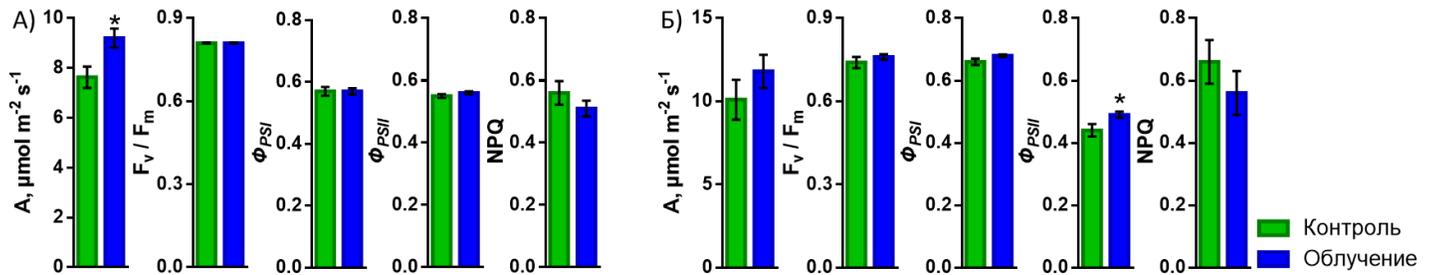


Рисунок 3. Влияние ИИ на ассимиляцию CO_2 и показатели флуоресценции хлорофилла у растений пшеницы (А) и табака (Б). А – ассимиляция CO_2 , F_v / F_m – потенциальный квантовый выход фотосистемы II, Φ_{PSI} и Φ_{PSII} – квантовые выходы фотосистем I и II, NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. * – $p < 0,05$

Активность физиологических процессов, включая важнейший процесс для накопления биомассы – фотосинтез – определяет интенсивность роста и развития растений. Активация фотосинтеза под влиянием ИИ показанная в наших экспериментах, соответствует другим исследованиям с использованием малых доз ИИ. Стимуляция имеет место как для световой, так и для темновой стадий фотосинтеза. Согласно результатам транскриптомного анализа (Kovalchuk et al., 2007), у растений, хронически облучаемых в малых дозах, не происходит активации связанных с фотосинтезом генов домашнего хозяйства, что может косвенно указывать на преобладание регуляции фотосинтетической машинерии за счёт изменения её активности, а не количества компонентов.

На активность фотосинтеза может оказывать влияние доступность субстрата реакции – CO_2 за счёт изменения устьичной проводимости. При облучении как для растений пшеницы, так и для растений табака показано существенное возрастание транспирации – процесса, величина которого, как правило, коррелирует с устьичной проводимостью (рис. 4).

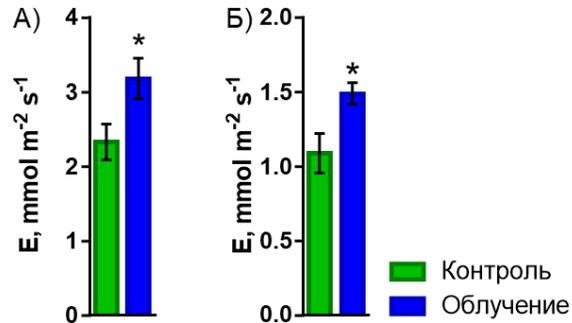


Рисунок 4. Влияние ИИ на уровень транспирации у растений пшеницы (А) и табака (Б). Е – уровень транспирации. * – $p < 0,05$

Наблюдаемое в эксперименте возрастание транспирации согласуется с данными литературы, однако исследования в этой области носят единичный характер. Повышение уровня транспирации у облучённых растений, вероятнее всего, связано со сдвигом соотношения стрессовых и стимулирующих гормонов. Показано, что при малых дозах происходит сдвиг баланса «стрессовых» и «стимулирующих» гормонов в сторону «стимулирующих», т.е. увеличивается концентрация и усиливаются пути трансдукции сигнала таких гормонов как ИУК, цитокинины, гибберелины (Latif et al., 2011; Bitarishvili et al., 2018). Также при малых дозах может изменяться концентрация АБК (Latif et al., 2011; Qi et al., 2015).

Ещё одним важным механизмом повышения уровня ассимиляции CO_2 под действием ИИ может являться увеличение активности ферментов темновой стадии фотосинтеза. Известно, что при облучении в малых дозах может возрасти активность ключевого фермента темновой стадии фотосинтеза Рубиско (Singh et al., 2012; Arena et al., 2013; Ahuja et al., 2014). В основе такой активации также может лежать изменение концентрации фитогормонов. В литературе описано, что некоторые «стимулирующие» гормоны могут увеличивать активность фотосинтетических ферментов и усиливать потребление продуктов фотосинтеза.

Ускоренный отток ассимилятов из-за возросшей скорости транспортных процессов может являться ещё одной причиной активации ассимиляции и фотосинтеза в целом. Основной формой энергии для вторичного трансмембранного транспорта является электрохимический градиент протонов на цитоплазматической мембране. Электрический потенциал на мембране содержит две компоненты – диффузионную, возникающую за счёт пассивного переноса ионов, и метаболическую, возникающую за счёт работы H^+ -АТФазы. Добавление ингибитора H^+ -АТФазы ортованадата натрия (Na_3VO_4) вызывает деполяризацию, величина которой отражает долю метаболической компоненты электрического потенциала на мембране. Показано, что ИИ может несколько увеличивать потенциал на цитоплазматической мембране и приводить к существенному возрастанию доли метаболической компоненты (рис. 5), что может указывать на увеличение активности H^+ -АТФазы под действием радиации.

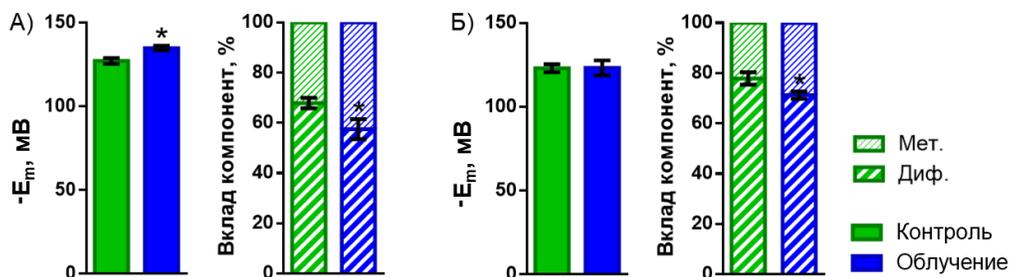


Рисунок 5. Влияние ИИ на мембранный потенциал и распределение диффузионной (Диф) и метаболической (Мет) компонент потенциала у растений пшеницы (А) и табака (Б). E_m – внутриклеточно регистрируемый мембранный потенциал. * – $p < 0,05$

Результаты экспериментов указывают на способность ИИ активировать H^+ -АТФазу, фермент, который в ходе своей работы переносит протоны из цитоплазмы в апопласт. Такая активация АТФазы может лежать в основе ряда эффектов, связанных со стимуляцией физиологических процессов включая фотосинтез. В результате повышения интенсивности работы H^+ -АТФазы может иметь место 1) увеличение внутриклеточного рН, что может влиять на активность таких фотосинтетических ферментов как Рубиско, рибулозофосфаткиназа, дегидрогеназа фосфоглицеринового альдегида, фруктозодифосфатаза; 2) увеличение электрохимического градиента на мембране, что вызывает активацию вторичного транспорта метаболитов; 3) изменение равновесных потенциалов для ионов, а затем осмотического потенциала для воды в замыкающих клетках устьиц, что приводит к их открыванию. Пути регуляции протонной АТФазы многообразны и могут реализовываться как на генетическом, так и на физиологическом уровнях. Обнаруженная в нашем эксперименте активация фотосинтеза и физиологических процессов в целом имеет в своей основе, по-видимому, преимущественно физиологическую регуляцию, связанную с изменением статуса регуляторных систем.

Глава 4 содержит изложение и обсуждение результатов исследования влияния ИИ на ВП и вызываемые им функциональные ответы.

Малые дозы ИИ не оказывают негативного эффекта на растения, растущие в благоприятных условиях. Однако неясно как растения будут реагировать на стрессовые факторы, которым они постоянно подвергаются в естественных условиях произрастания. Развитие устойчивости к изменяющимся условиям среды является сложным процессом и как правило сопряжено с распространением по растению дистанционных сигналов. Можно выделить следующие этапы развития процесса: 1) рецепция стрессора, генерация и распространение дистанционного сигнала, 2) развитие вызванных сигналом функциональных ответов, 3) формирование интегральной устойчивости организма к стрессору. Потенциально, модификация каждого из этих этапов под влиянием ИИ может повлиять на итоговую реакцию растения на неблагоприятные условия.

В экспериментах анализировалось влияние ИИ на все ключевые этапы формирования вызванной сигналом адаптации, а также потенциальные механизмы такого влияния.

Влияние ИИ на генерацию и распространение ВП

При действии быстронарастающих стрессовых факторов, таких как изменение температуры, важное значение имеет скорость развития системного ответа, которая, в свою очередь, зависит от времени возникновения дистанционного сигнала. Вследствие этого изменение порога может оказывать значительное влияние на адаптацию растений к действию

стрессоров. Влияние ИИ на пороговые условия возникновения ВП у растений пшеницы изучалось при постепенном нагреве кончика листа в кювете с водой. У облучённых растений обнаружено снижение пороговой температуры, при которой возникает ВП. В контроле температура возникновения реакции составляла $67,3 \pm 0,7$ °С, под влиянием ИИ – $65,3 \pm 0,6$ °С.

Возникнув в зоне локального раздражения или в зоне, наиболее чувствительной к стрессору, ВП распространяется на значительную область растения. Для ВП характерно затухание сигнала по мере его распространения: с удалением от зоны возникновения снижается амплитуда и скорость сигнала. Обнаружено, что ИИ значительно увеличивало амплитуду сигнала, скорости его развития и распространения (рис. 6). Величина различий возрастала по мере удаления от места стимуляции. У облучённых растений сигнал распространялся на большее расстояние, зачастую дальность его распространения ограничивалась только длиной стимулируемого листа. У растений табака также имели место тенденции к увеличению амплитуды ВП под влиянием ИИ.

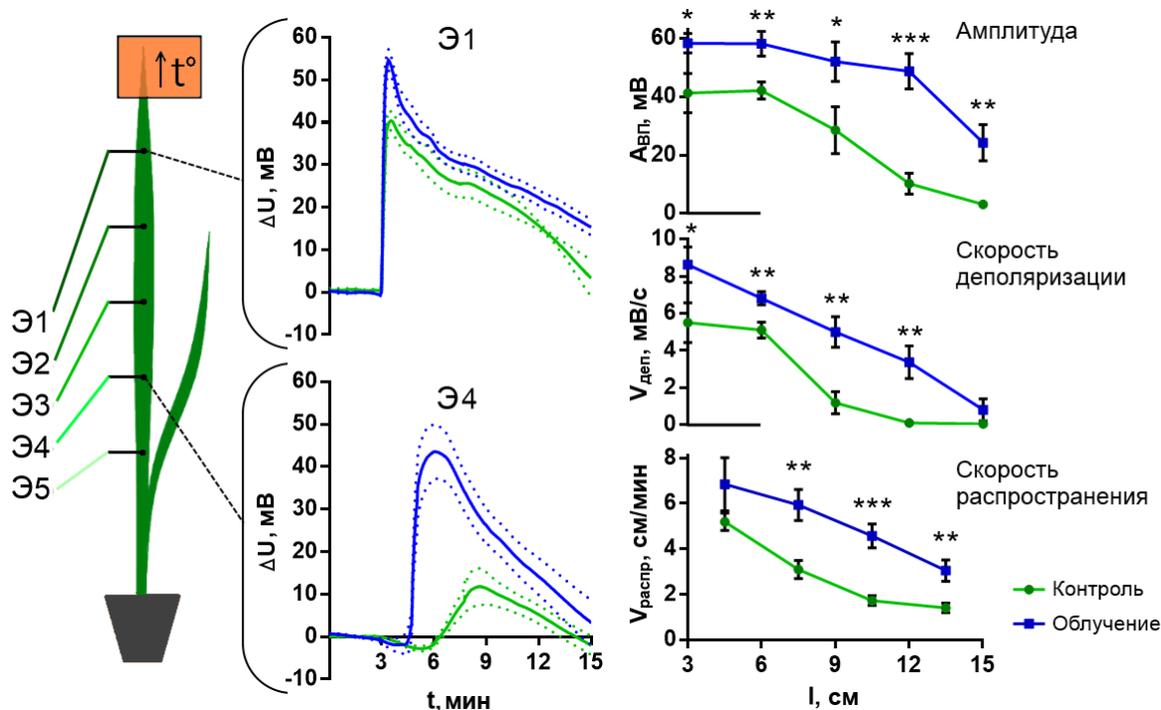


Рисунок 6. Влияние ИИ на параметры индуцированного нагревом переменного потенциала. Слева приведена схема раздражения и расположения электродов. В центре приведены усреднённые записи ВП у контрольных и облучённых растений на различном удалении от зоны стимулирования. Справа на диаграммах приведены амплитуда ($A_{вп}$), скорость деполяризации ($V_{деп.}$) и скорость распространения ВП ($V_{распр.}$) у контрольных и облучённых растений. Э1-Э5 – измерительные электроды. Расстояния между электродами по 3 см. ΔU – внеклеточно регистрируемая разность потенциалов. * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$

Выяснение причин обнаруженного усиления дистанционных электрических сигналов, проявляющееся в возрастании их амплитуды, скорости распространения, скорости деполяризации и увеличении охваченной сигналом области, требует рассмотрения особенностей генерации и распространения изучаемого в работе электрического сигнала растений – ВП. В отличие от электрических сигналов животных, ВП не является самораспространяющейся реакцией. За распространение ВП отвечает химический сигнал, переносимый по проводящим пучкам и способный вызывать изменение мембранного потенциала. Согласно современным

представлениям, в качестве такого сигнала могут выступать АФК. Они не только распространяются из зоны повреждения, но и могут дополнительно генерироваться НАДФН-оксидазами плазматической мембраны, обеспечивая самоподдерживающееся распространение сигнала на большие расстояния. Генерация ВП происходит при последовательном изменении проницаемости мембраны для отдельных ионов. Реакция начинается с взаимодействия АФК с АФК-активируемыми кальциевыми каналами (Demidchik, 2018). Увеличение концентрации цитоплазматического кальция способствует открыванию анионных каналов и выходу анионов по электрохимическому градиенту. Ионы Ca^{2+} также вызывают временную инактивацию протонной АТФазы. Эти события приводят к развитию деполяризации. Последующая реполяризация происходит вследствие открывания потенциал-зависимых калиевых каналов выходящего тока и восстановления работы АТФазы. Параметры, изучаемые в нашем эксперименте, отражают специфику обоих этапов ВП: скорость распространения характеризует процесс распространения ВП, а амплитуда и скорость деполяризации – процесс генерации сигнала в клетках.

Мы предполагаем, что влияние ИИ на ВП реализуется как за счёт изменений, возникающих в состоянии покоя, так и за счёт модификации самого сигнального пути, активирующегося после появления стимула. Главным фактором, изменяющимся в состоянии покоя, нам представляется изменение мембранного потенциала. Увеличение электрического потенциала на мембране, реализующееся, предположительно, за счёт роста активности H^+ -АТФазы, было напрямую показано в наших экспериментах (рис. 5). Возникающее в результате этого увеличение электрохимического градиента на мембране может увеличивать движущую силу для анионов, что будет приводить к наблюдаемым нами снижению порога возникновения электрического сигнала, увеличению скорости деполяризации и возрастанию амплитуды ВП. Ещё один потенциальный механизм, обуславливающий модификацию облучённых растений в состоянии покоя, может быть связан с изменением уровня экспрессии генов белков-транспортёров, участвующих в формировании и поддержании электрохимического потенциала на мембране.

В самой активирующейся сигналом системе к радиации, по-видимому, наиболее чувствителен АФК- Ca^{2+} хаб. Известно, что хроническое облучение в малых дозах способствует усилению экспрессии генов клеточной стрессовой сигнализации, в том числе НАДФН-оксидаз (Biermans et al., 2015). Происходящее в результате этого локальное увеличение концентрации АФК может способствовать достижению подпорогового уровня для открытия АФК-активируемых Ca^{2+} -каналов, а, следовательно, более массовому открыванию анионных каналов и более глубокому подавлению H^+ -АТФазы. Результатом этого будет являться наблюдаемое в нашем эксперименте снижение порога возникновения электрического сигнала, увеличение скорости деполяризации и амплитуды ВП. Также этим, по-видимому, объясняется распространение сигнала на большее расстояние и большая скорость распространения сигнала у облучённых растений.

Влияние ИИ на параметры вызванных ВП функциональных ответов

При прохождении по листу ВП вызывает разнообразные функциональные ответы. К числу значимых для формирования устойчивости относятся, в том числе, ответы фотосинтеза и транспирации. Ответ фотосинтеза на ВП развивается в две фазы: кратковременную, занимающую несколько минут, и длительную, с продолжительностью более часа. Изменения показателей наиболее выражены во второй фазе. В это время и у пшеницы, и у табака имеет место переходное снижение интенсивности фотосинтетических процессов, которое проявляется в угнетении ассимиляции CO_2 , Φ_{PSI} , Φ_{PSII} и увеличении NPQ .

В эксперименте показано, что ИИ не оказывает влияния на направленность индуцированных ВП реакций, однако способствует повышению их амплитуды. У обоих видов

растений статистически значимо возрастает амплитуда ответов ассимиляции CO_2 и Φ_{PSII} (рис. 7). На растениях табака также был выполнен анализ пространственной динамики вызванных ВП фотосинтетических ответов. Было показано, что амплитуды ответов фотосинтеза уменьшаются по мере удаления от места раздражения. Обнаружен выраженный эффект ИИ на пространственную динамику развития ответа. Параметры ответов не различаются на малых расстояниях от зоны раздражения, однако статистически значимые различия имеют место в более отдалённых областях листа. Таким образом, различия в амплитуде ответов у контрольных и облучённых растений возрастают по мере удаления от зоны раздражения, что свидетельствует об увеличении площади листа, охваченной изменениями, под действием ИИ.

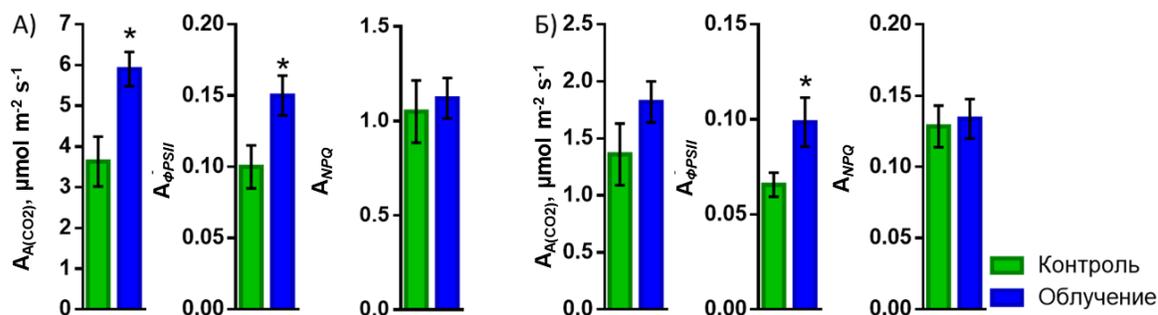


Рисунок 7. Влияние ИИ на вызванные ВП изменения показателей ассимиляции CO_2 и флуоресценции хлорофилла у растений пшеницы (А) и табака (Б). А – ассимиляция CO_2 , Φ_{PSII} – квантовый выход фотосистемы II, NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. $A_{\Delta(\text{CO}_2)}$ – амплитуда изменения ассимиляции CO_2 . $A_{\Phi_{PSII}}$ – амплитуда изменения Φ_{PSII} . A_{NPQ} – амплитуда изменения NPQ . * – $p < 0,05$

Для изучения влияния ИИ на особенности пространственной динамики фотосинтетического ответа, вызванного ВП, у растений табака измерялась площадь, в которой имеет место отклонение Φ_{PSII} от начального (до генерации ВП) уровня. Выраженное снижение Φ_{PSII} начиналось примерно через 15 минут после ВП. В ходе анализа изображений показано, что формирование ответа начиналось исходно в районе жилок, затем происходило увеличение площади, охваченной изменениями, за счет соседних с жилками областей. Облучение оказывало значительный эффект на пространственную динамику ответа – ИИ способствовало существенно более быстрому формированию ответа в большей области листа (рис. 8).

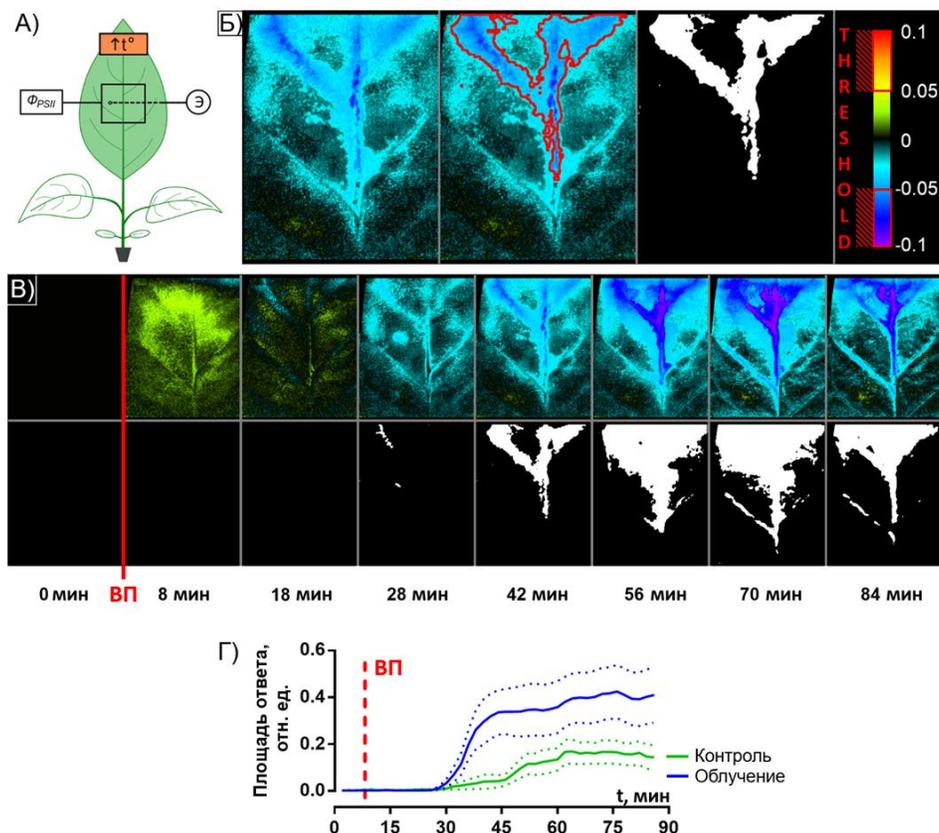


Рисунок 8. Влияние ИИ на площадь вызванного ВП фотосинтетического ответа в листе табака. (А) – схема эксперимента. (Б) – схема выделения площади листа, в которой имеет место отклонение Φ_{PSII} от начального (до генерации ВП) уровня. (В) – динамика изменения площади, используемой в анализе. (Г) – усреднённые записи динамики площади вызванного ВП фотосинтетического ответа в листе контрольных и облучённых растений. Пунктиром обозначено время, соответствующее прохождению ВП.

Ответ транспирации на прохождение ВП по листу развивается в две фазы. Во время первой, кратковременной, стадии имеет место возрастание транспирации, в то время как во время второй, длительной, она снижается и может достигать близких к нулю значений. ИИ существенно увеличивает амплитуду вызванного ВП снижения транспирации (рис. 9).

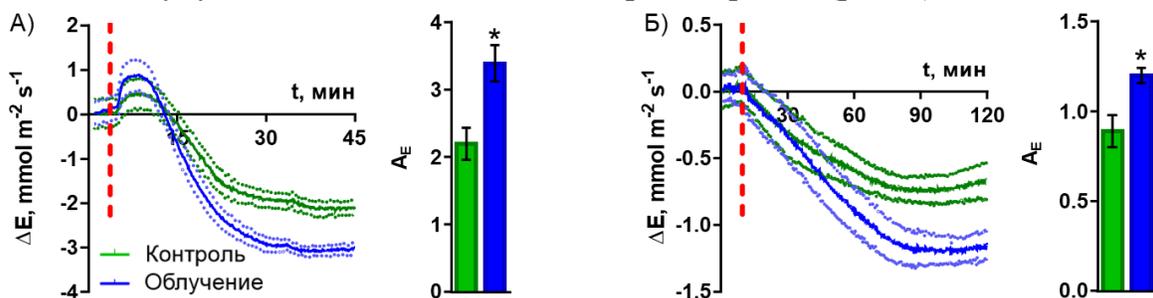


Рисунок 9. Влияние ИИ на параметры вызванных ВП изменений уровня транспирации (E) в листе растений пшеницы (А) и табака (Б). На усреднённых записях за ноль принят уровень транспирации до раздражения. Пунктиром обозначено время, соответствующее прохождению ВП. * – $p < 0,05$

В нашем эксперименте облучённые растения не только демонстрировали большую интенсивность стрессовых сигналов, у них также имели место более выраженные ответы фотосинтеза и транспирации, индуцированные ВП (рис. 7, 9). Важно подчеркнуть, что под

действием облучения существенно изменяются пространственно-временные характеристики развития ответа. Обнаружено, что ИИ способствует более быстрому развитию ответа на большей площади листа (рис. 8), т.е. увеличивается площадь листа, охваченная изменениями. В исследовании ключевых мишеней ИИ основное внимание требуется уделить основным механизмам этапа преобразования ВП в функциональный ответ. Преобразование происходит за счёт вторичных по отношению к стрессору сигнально-регуляторных систем. Для фотосинтеза и транспирации такими системами являются сдвиги рН, определяемые активностью АТФазы, и сдвиги концентраций фитогормонов.

Сдвиги рН, сопровождающие распространение ВП, играют определяющую роль в развитии фотосинтетического ответа. Сдвиги рН регистрировались у растений табака по изменению отношения интенсивности флуоресценции располагающегося в цитоплазме генетически кодируемого сенсора Pt-GFP (рис. 10). Флуоресцентный имиджинг на уровне целого растения демонстрирует быстрое и длительное снижение такого отношения после прохождения электрического сигнала, что указывает на закисление цитоплазмы. Реакция охватывает всю площадь листа, амплитуда снижается по мере удаления от места раздражения. ИИ способствовало возрастанию амплитуды сдвигов рН и снижению их затухания с расстоянием (рис. 10).

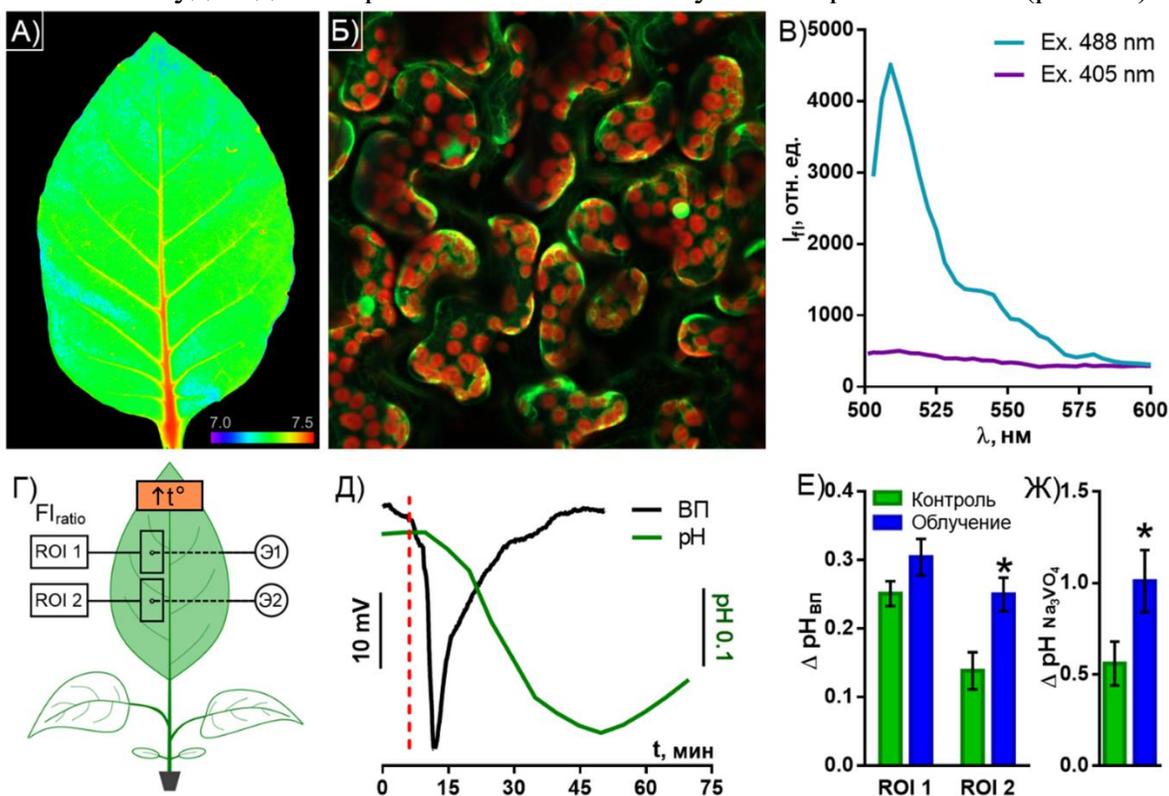


Рисунок 10. Влияние ИИ на параметры вызванных ВП сдвигов рН в листе табака. (А) – фото отношения интенсивностей флуоресценции листа табака, экспрессирующего Pt-GFP. (Б) – фото паренхимных клеток листа табака, экспрессирующего флуоресцентный ратиометрический рН-чувствительный белок Pt-GFP. Зелёный канал – флуоресценция Pt-GFP, красный канал – флуоресценция хлорофилла. (В) – спектр флуоресценции клеток табака, экспрессирующих Pt-GFP, при возбуждении на 405 и 488 нм. (Г) – схема регистрации индуцированного нагревом ВП и вызванного им изменения флуоресценции Pt-GFP. (Д) – типичная динамика ВП и вызванного им сдвига рН в листе растения табака. (Е) – Амплитуды сдвигов рН в ROI 1 и 2 в листе контрольных и опытных растений. (Ж) – амплитуды изменений рН (закисления) паренхимных клеток листа табака в ответ на добавление ингибитора H^+ -АТФазы. Э – измерительные электроды. * – $p < 0,05$

Влияние ИИ на активность H^+ -АТФазы, которая участвует в поддержании рН в клетке, измерялось при помощи специфического ингибитора Na_3VO_4 . У растений табака регистрировался вклад H^+ -АТФазы в поддержание рН цитоплазмы. Величина рН у растений табака в отсутствие ингибитора и после его добавления определялась по флуоресценции рН-чувствительного зонда Pt-GFP. Показано, что в покое у контрольных и облучённых растений уровень рН не различался, при этом сдвиги рН, индуцированные Na_3VO_4 , достоверно возрастали вследствие облучения (рис. 10).

В наших экспериментах показано, что ИИ может модифицировать вызванные ВП ответы фотосинтеза за счёт влияния на сдвиги рН. Показано, что ИИ усиливает закисление цитоплазмы, вызываемое ВП (рис. 10). Примечательно, что различия между амплитудами ответов рН у контрольных и облучённых растений возрастают с увеличением расстояния от места стимуляции, что соответствует характеру фотосинтетических ответов (рис. 7). Известно, что при прохождении ВП ингибируется протонная АТФаза – фермент, выкачивающий H^+ из цитоплазмы и тем самым участвующий в поддержании уровня рН – в результате чего цитоплазма закисляется, а апопласт защелачивается. Это служит причиной снижения доступности CO_2 и активности ЭТЦ хлоропластов. Ингибиторный анализ показал, что усиление сдвигов рН под действием облучения может быть связано с тем, что в условиях облучения активность АТФазы повышена в сравнении с контролем (рис. 10). Это соответствует результатам, полученным при анализе вклада H^+ -АТФазы в мембранный потенциал у облучённых растений (рис. 5).

Вторым путём реализации эффекта ИИ на функциональные ответы может являться влияние на устьичную проводимость. ИИ усиливает спад устьичной проводимости, вызываемый прохождением ВП (рис. 9). В качестве наиболее вероятного механизма длительного закрывания устьиц, вызванного ВП, рассматривается временное повышение концентрации стрессовых гормонов, в первую очередь ЖК и АБК (Ladeynova et al., 2020). В качестве наиболее значимых механизмов регуляции содержания стрессовых фитогормонов, способных изменять устьичный просвет при ВП, предполагаются сопровождающие электрический сигнал сдвиги рН и концентрации ионов кальция. В наших экспериментах напрямую было показано увеличение сдвигов рН у облучённых растений (рис. 10), а усиление ВП позволяет также предположить усиление сдвигов концентрации ионов кальция (рис. 6). Кроме того, известно, что малые дозы ИИ способны изменять статус гормональной системы, влияя на концентрацию и компоненты сигнальных путей важнейших гормонов, регулирующих устьица.

Представляется логичным, что усиленные под действием ИИ электрические сигналы вызывают более интенсивные функциональные ответы за счёт более выраженных ионных сдвигов, сопровождающих сигнал. Для проверки линейности связи между этими показателями был рассчитан коэффициент корреляции между амплитудами ВП и вызываемых им фотосинтетических ответов. У контрольных растений показано наличие положительной корреляции между амплитудой ВП и амплитудами ответов Φ_{PSII} и NPQ – наиболее значимых для формирования устойчивости к стрессорам показателей. Обнаружено, что у облучённых растений пшеницы и табака корреляции существенно нарушаются или полностью исчезают. Для определения этапа, на котором происходит нарушение линейной связи между амплитудами ВП и ответов фотосинтеза, на растениях табака анализировались коэффициенты корреляции между амплитудами ВП и сдвигов рН. У контрольных растений эти показатели связаны, между ними имеют место достоверные корреляции (рис. 13). Для амплитуд ВП и вызываемых ими сдвигов рН величина корреляции под влиянием облучения существенно снижалась (рис. 13).

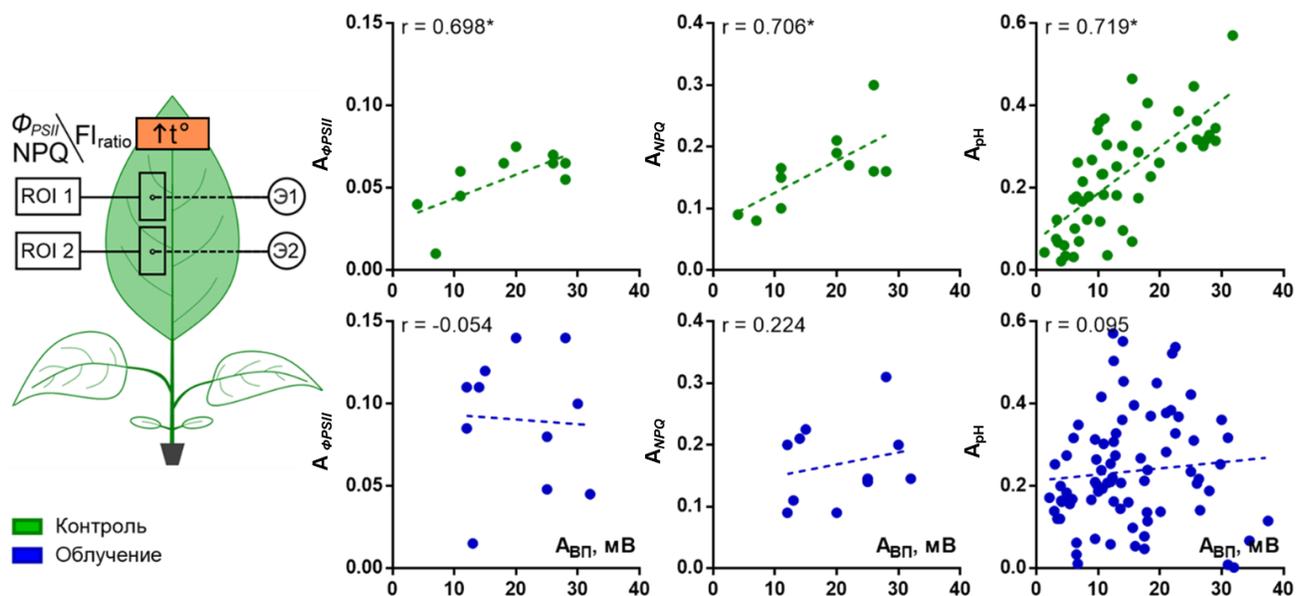


Рисунок 13. Влияние ИИ на корреляции между амплитудами ВП и вызванных им изменений показателей флуоресценции хлорофилла и сдвигов рН у растений табака. Слева представлена схема раздражения и расположения электродов и области регистрации показателей флуоресценции хлорофилла и Pt-GFP. Φ_{PSII} – квантовый выход фотосистемы II, NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. $A_{\Phi_{PSII}}$ – амплитуда изменения Φ_{PSII} . A_{NPQ} – амплитуда изменения NPQ . A_{pH} – амплитуда изменения рН. Э1 и Э2 – измерительные электроды. * – $p < 0,05$

Корреляционный анализ показывает, что у облучённых растений пшеницы и табака существенно нарушается зависимость амплитуд ответов фотосинтеза от амплитуд ВП. По-видимому, имеет место формирование выраженного фотосинтетического ответа при более низких амплитудах стрессового сигнала. На это также указывает увеличение радиацией площади охвата листа реакцией (рис. 8) при минимальных отличиях в параметрах сигнала. Можно предположить, что нарушение корреляции происходит вследствие модификации под действием ИИ процессов, ответственных за его преобразование в функциональный ответ. Как было описано выше, преобразование сигнала в ответ фотосинтеза связано со сдвигами рН. Т.е. под действием ИИ может иметь место модификация в цепи событий «ВП – сдвиг рН – ингибирование фотосинтеза». Эти изменения могут происходить на этапе «сдвиг рН – ингибирование фотосинтеза». Известно, в частности, что зависимость интенсивности световой фазы от концентрации протонов в люмене проявляется в определённом диапазоне рН. Предполагая изначально больший градиент на тилакоидной мембране у облучённых растений (на это указывает большая интенсивность фотосинтетических процессов (рис. 3)) и более сильные сдвиги рН в ходе ВП (рис. 10), мы получаем отличный от контроля диапазон изменений концентрации протонов люмена. В этом случае к сильным фотосинтетическим ответам будут приводить даже относительно низкоамплитудные сигналы, что и было получено в нашем эксперименте (рис. 12). При этом ВП с большой амплитудой, преобладавшие у облучённых растений, по-видимому, вызывают настолько сильные сдвиги концентрации протонов в люмене, что они выходят за пределы диапазона регуляции. Как следствие, у облучённых растений нет роста амплитуды ответа с усилением сигнала. Кроме того, в ходе анализа корреляций между амплитудами ВП и вызываемыми ими сдвигами рН напрямую показано, что нарушение корреляции имеет место уже на этапе «ВП – сдвиг рН» (рис. 13). Таким образом, в ходе экспериментов выявлено влияние ИИ на систему регуляции рН.

Ещё одной потенциальной точкой нарушения корреляции между амплитудами сигналов и ответов может являться этап гормон-обусловленного преобразования ВП в реакции фотосинтеза. В этом случае нарушение корреляции может происходить за счёт изменения под действием ИИ исходного гормонального статуса, изменения чувствительности гормон-синтезирующих систем к сдвигу ионных концентраций, а также за счёт модификации облучением системы восприятия гормонального сигнала. Такая модификация системы восприятия, происходящая за счёт изменения экспрессии гормон-чувствительных транскрипционных факторов и гормон-активируемых генов, была показана в ряде работ на облучённых растениях (Kim et al., 2007; Kovalchuk et al., 2007; Gicquel et al., 2012). Таким образом, нарушение корреляции ответов фотосинтеза с амплитудой ВП у облучённых растений может быть связано с влиянием ИИ на исходное состояние сигнальных систем и выходом сигналов за пределы зоны чувствительности системы регуляции.

Глава 5 содержит изложение и обсуждение результатов исследования влияния ИИ на вызываемую ВП устойчивость к тепловому стрессу.

Для изучения роли модификации стрессовых сигналов под действием ИИ в формировании устойчивости к стрессовым факторам среды регистрировали состояние контрольных и облучённых растений пшеницы при действии повышенной температуры. Устойчивость к тепловому стрессу оценивали по величине остаточной активности фотосинтеза. В эксперименте растения подвергались стрессору такой интенсивности, которая вызывала значительное угнетение фотосинтетических процессов и при этом не приводила к гибели растений от перегрева. Обнаружено, что у облучённых проростков эффект теплового стресса был выражен значительно слабее (рис. 14). У контрольных растений ВП способствовал поддержанию более высокого уровня фотосинтеза после теплового стресса. У облучённых растений наблюдалась обратная ситуация: уровень фотосинтеза, незначительно подавлявшийся после теплового стресса, после прохождения ВП снижался существенно. Через 3 часа после прогрева различия между группами имели статистически значимый характер, через 24 часа сохранялись на уровне выраженных тенденций (рис. 14).

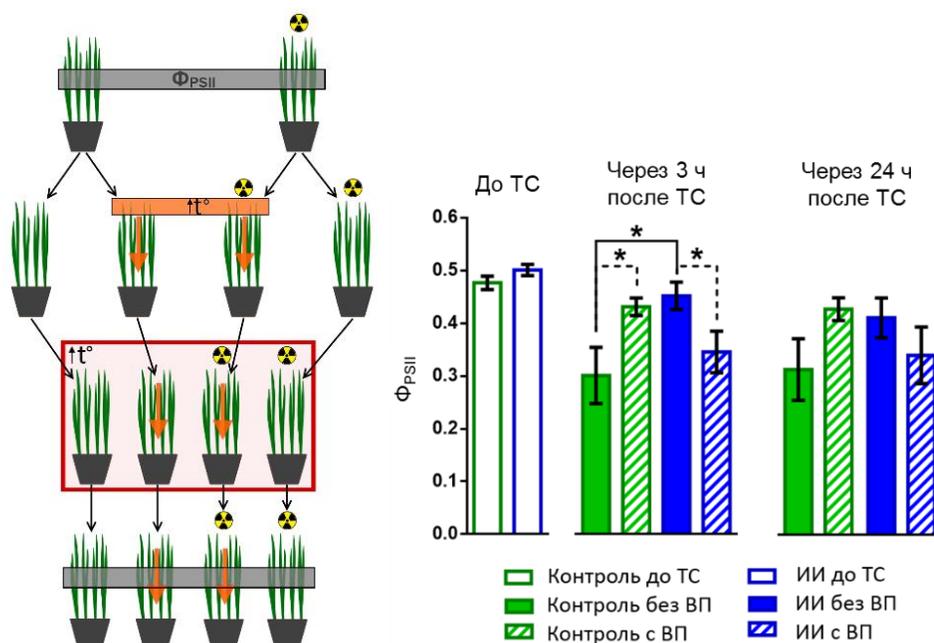


Рисунок 14. Влияние ИИ на остаточный уровень Φ_{PSII} растений пшеницы через 3 и 24 часа после теплового стресса. Слева приведена схема эксперимента. Серыми прямоугольниками обозначены этапы, на которых регистрировался уровень Φ_{PSII} . Оранжевым прямоугольником обозначен этап, на котором локальным нагревом вызывался ВП. Красным прямоугольником обозначен этап, на котором тотальным прогревом вызывался тепловой стресс. Знаками радиации обозначены группы, группы облучённых растений. Оранжевыми стрелками обозначены группы, у которых вызывался ВП. Справа на диаграмме приведены остаточные уровни Φ_{PSII} у контрольных и облучённых растений после теплового стресса. ТС – тепловой стресс. * – $p < 0,05$

Протекторное действие низкоинтенсивного ИИ и ВП реализуется различными путями. Как было показано ранее, защитный эффект ВП обусловлен в первую очередь снижением интенсивности фотосинтеза. Снижение активности ЭТЦ хлоропластов является одним из универсальных механизмов повышения устойчивости фотосинтетического аппарата к различным стрессорам, включая высокую температуру. Эффект ИИ, по-видимому, связан с повышенным уровнем транспирации (рис. 4), позволяющем эффективнее по сравнению с необлучённым контролем поддерживать температуру листа при прогреве. Это важно, поскольку меньшая температура листа при тепловом стрессе обеспечивает меньшее количество повреждений.

В случае распространения ВП, которое предшествовало нагреву (тепловому стрессу) имеет место противоположный эффект: у необлученных растений – повышение устойчивости, у облученных – понижение. У необлученных растений описанный выше защитный эффект от ВП-индуцированного снижения активности фотосинтеза превосходил негативное влияние ВП-индуцированного понижения транспирации (рис. 15). У облученных растений, вследствие усиления ВП-индуцированного ответа транспирации происходило более значительное в сравнении с контролем увеличение температуры листа. Негативный эффект от столь значительного увеличения температуры уже не мог быть компенсирован защитным эффектом от снижения активности фотосинтеза (рис. 15).

При этом нельзя исключать, что для других стрессоров подобные изменения, напротив, могут приводить к благоприятным для растений результатам. Например, усиленные радиацией ответы транспирации могут оказывать положительный эффект при засухе.

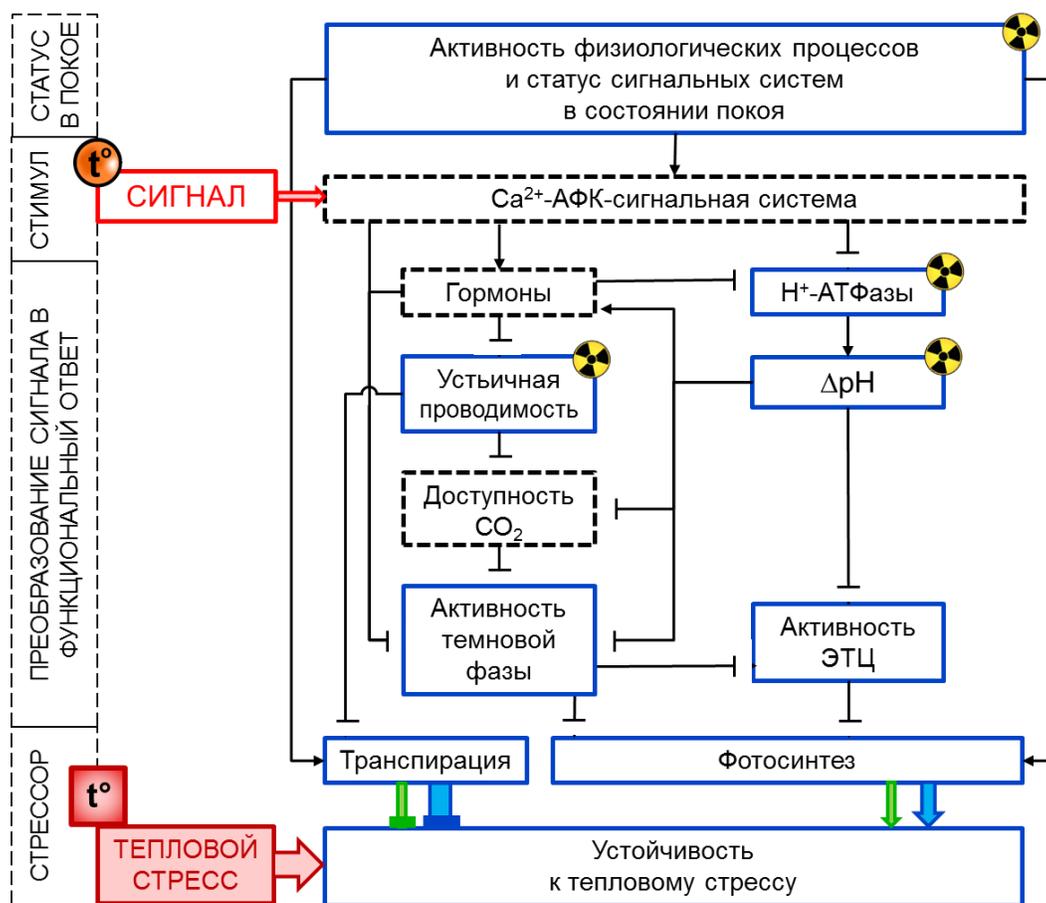


Рисунок 15. Предполагаемая схема влияния ИИ на адаптацию растений к тепловому стрессу. Пунктиром обозначены элементы схемы, предположенные на основе данных литературы. Знаками радиации показаны мишени облучения, выявленные в ходе экспериментов. Зелёными стрелками показано влияние вызванных сигналами ответов фотосинтеза и транспирации на устойчивость к тепловому стрессу у контрольных растений; синими стрелками – аналогично для ИИ

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе экспериментов было показано, что хроническое β -облучение в малых дозах способно не только влиять на морфофункциональное состояние растений, но и модифицировать вызванные стресс-факторами среды дистанционные электрические сигналы. У облучённых растений обнаружено возрастание амплитуды сигналов и вызванных ими ответов фотосинтеза и транспирации. Такие изменения имеют количественный характер: изменяются амплитуда ответов, их длительность, а также площадь растения, охваченная реакцией. Однако, следствием таких количественных изменений являются качественные изменения: облучение инвертирует эффект дистанционных электрических сигналов на устойчивость к тепловому стрессу. Показано, что после прохождения сигнала устойчивость контрольных растений повышается, а облучённых – снижается. Можно предположить, что в основе такой инверсии лежат существенное усиление под действием ИИ вызванных ВП ответов транспирации.

В ходе анализа механизмов влияния облучения на индуцированную сигналами устойчивость к стресс-факторам выявлено два пути, по которым могут реализовываться обнаруженные эффекты ИИ. Первый путь связан с повышением активности протонной АТФазы и вызываемыми ею сдвигами рН, второй путь связан с более выраженным закрытием устьиц.

ВЫВОДЫ

1. Хроническое облучение в малых дозах вызывает рост морфометрических показателей растений пшеницы и табака, стимулируя активность фотосинтеза и транспирации, а также повышая величину мембранного потенциала.

2. ИИ в малых дозах усиливает вызванные локальным нагревом электрические сигналы и вызываемые ими ответы фотосинтеза и транспирации у исследуемых растений.

3. В основе влияния ИИ на электрические сигналы и вызываемые ими функциональные ответы лежит модификация внутриклеточных сигнально-регуляторных систем, задействованных, в частности, в процессе преобразования сигнала в функциональный ответ. За счёт стимулирования активности H^+ -АТФазы облучение усиливает вызванные ВП сдвиги рН.

4. Модифицированные под действием ИИ электрические сигналы и вызванные ими функциональные ответы нарушают формирование устойчивости к тепловому стрессу. В то время как у контрольных растений ВП способствует повышению устойчивости к тепловому стрессу, у облучённых растений ВП устойчивость снижает.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях (Web of Science, Scopus), входящих в список журналов, рекомендованных ВАК:

1. Gudkov S., **Grinberg M.**, Sukhov V., Vodeneev V. Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants // Journal of Environmental Radioactivity, 2019, Vol. 202, P. 8-24.

2. **Grinberg M.A.**, Gudkov S.V. Balalaeva I.V., Gromova E., Sinitsyna Yu., Sukhov V., Vodeneev V. Effect of chronic β -radiation on long-distance electrical signals in wheat and their role in adaptation to heat stress // Environmental and Experimental Botany, 2021, Vol. 184, 104378.

3. **Grinberg M.A.**, Vodeneev V.A., Il'in N.V., Mareev E.A. Laboratory Simulation of Photosynthesis in a Wide Range of Electromagnetic and Radiation Environment Parameters // Astronomy Reports, 2023, Vol. 67, P. 71-77.

4. **Grinberg M.**, Nemtsova Yu., Ageyeva M., Brilkina A., Vodeneev V. Effect of low-dose ionizing radiation on spatiotemporal parameters of functional responses induced by electrical signals in tobacco plants // Photosynthesis Research, 2023. DOI: 10.1007/s11120-023-01027-9.

Статьи в рецензируемых научных изданиях, НЕ входящих в список журналов, рекомендованных ВАК:

1. **Гринберг М.А.**, Громова Е.Н., Гудков С.В., Воденеев В.А. Влияние хронического облучения в малых дозах на электрогенез и фотосинтетическую активность проростков гороха // Актуальные вопросы биологической физики и химии, 2018, Т. 3, №3, С. 680-686.

Тезисы докладов:

1. **Гринберг М.А.**, Ладейнова М.М., Гудков С.В., Воденеев В.А. Влияние хронического облучения в малых дозах на электрогенез высших растений // Тезисы докладов 70-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление». 2017. Нижний Новгород. С 51.

2. **Гринберг М.А.**, Ладейнова М.М., Громова Е.Н., Гудков С.В., Воденеев В.А. Влияние хронического облучения в малых дозах на электрогенез и фотосинтетическую активность высших растений // Тезисы 22-ой Международной Пушинской школы-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века». 2018. Пушино. С. 414-415.

3. **Гринберг М.А.**, Громова Е.Н., Гудков С.В., Воденеев В.А. Влияние хронического облучения на электрические сигналы растений и их роль в формировании устойчивости к стрессорам среды // Сборник научных трудов VI Съезда биофизиков России. 2019. Сочи. С. 338-339.

4. **Гринберг М.А.**, Немцова Ю.А., Гудков С.В., Воденеев В.А. Влияние хронического β -облучения на электрические сигналы растений // Международная научно-практическая конференция «Ядерно-физические исследования и технологии в сельском хозяйстве». 2020. Обнинск. С. 51-54.

5. **Гринберг М. А.**, Немцова Ю. А., Ладейнова М. М., Кузнецова Д. В., Громова Е. Н., Брилкина А. А., Гудков С. В., Воденеев В. А. Механизмы влияния хронического β -облучения на электрические сигналы растений // Сборник тезисов докладов участников VIII Съезда по радиационным исследованиям. 2021. Москва. С. 91.

6. **Гринберг М.А.**, Воденеев В.А. Влияние ионизирующего облучения на физиологические процессы растений // Сборник докладов IV международной молодежной конференции «Современные проблемы радиобиологии, радиоэкологии и агроэкологии». 2021. Обнинск. С. 32-33.

7. **Гринберг М. А.**, Немцова Ю. А., Агеева М. Н., Козлова Е. А., Брилкина А. А., Воденеев В. А. Влияние ионизирующего излучения в малых дозах на пространственно-временные характеристики функциональных ответов, вызванных электрическими сигналами, у растений табака // Тезисы докладов Всероссийская научная конференция с международным участием «Физиология растений и феномика как основа современных фитобиотехнологий». 2022. Нижний Новгород. С. 44.

8. **Гринберг М. А.**, Немцова Ю. А., Громова Е. Н., Иванова А. В., Воденеев В. А. Влияние хронического облучения на индуцированную электрическими сигналами устойчивость к неблагоприятным факторам среды у растений // Сборник научных трудов VII Съезда биофизиков России. 2023. Краснодар. С. 31.