Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н. И. Лобачевского»

На правах рукописи

ГРИНБЕРГ МАРИНА АНТОНОВНА

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

1.5.2 – биофизика

Диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук

> Научный руководитель: доктор биологических наук, зав. кафедрой биофизики ИББМ ННГУ Воденеев Владимир Анатольевич

Нижний Новгород – 2023

оглавление

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Влияние ИИ на растения	11
1.1.1. Основные закономерности влияния ИИ на живые организмы	11
1.1.2. Влияние ИИ на рост и развитие растений	13
1.1.3. Влияние ИИ на физиологические процессы растений	14
1.2. Сигнальные системы растений	22
1.2.1. Типы дистанционных стрессовых сигналов растений	23
1.2.2. Механизмы генерации и распространения электрических сигналов	26
1.2.3. Индуцированные электрическими сигналами функциональные ответы	29
1.3. Влияние ИИ на электрические сигналы растений	31
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	36
2.1. Объекты исследования	36
2.2. Методы исследования	37
2.2.1. Определение морфометрических показателей	37
2.2.2. Измерение параметров вариабельного потенциала	37
2.2.3. Регистрация мембранного потенциала и ингибиторный анализ	38
2.2.4. Измерение параметров фотосинтеза и уровня транспирации	39
2.2.5. Пространственно-временное картирование параметров фотосинтеза	40
2.2.6. Измерение устойчивости к тепловому стрессу	41
2.2.7. Измерение внутриклеточного рН и ингибиторный анализ	42
2.2.8. Регистрация рН на уровне целого растения	43

2.2.9. Статистическая обработка
ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ ИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ
РАСТЕНИЙ В ПОКОЕ
3.1. Влияние ИИ на морфометрические показателей растений пшеницы и табака 45
3.2. Влияние ИИ на активность физиологических процессов растений пшеницы и
табака 46
ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ИИ НА ВП И ВЫЗЫВАЕМЫЕ ИМ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ
ОТВЕТЫ54
4.1. Влияние ИИ на генерацию и распространение ВП 55
4.2. Влияние ИИ на параметры вызванных ВП функциональных ответов у растений
пшеницы и табака
ГЛАВА 5. ВЛИЯНИЕ ИИ НА ВЫЗЫВАЕМУЮ ВП УСТОЙЧИВОСТЬ К
ТЕПЛОВОМУ СТРЕССУ75
ЗАКЛЮЧЕНИЕ
ВЫВОДЫ 80
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

А – ассимиляция углекислого газа;

АБК – абсцизовая кислота;

А_{ВП} – амплитуда вариабельного потенциала;

А_{*NPQ*} – амплитуда изменения нефотохимического тушения флуоресценции хлорофилла;

A_{pH} – амплитуда изменения pH;

А_{ФРЅІІ} – амплитуда изменения квантового выхода фотохимических реакций фотосистемы II;

АДФ – аденозиндифосфат;

АТФ – аденозинтрифосфат;

АФК – активные формы кислорода;

ВП – вариабельный потенциал;

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;

Е – транспирация;

ЖК – жасмоновая кислота;

ИИ – ионизирующее излучение;

МАРК – митоген-активируемые протеинкиназы;

ПД – потенциал действия;

РНК – рибонуклеиновая кислота;

РП – раневый потенциал;

СК – салициловая кислота;

СП – системный потенциал;

ТС – тепловой стресс;

Э – электрод;

ЭТЦ – электрон-транспортная цепь;

Е_т – внутриклеточно регистрируемый мембранный потенциал;

ETR – скорость переноса электронов по электрон-транспортной цепи;

F – текущий уровень флуоресценции хлорофилла;

F'_m – максимальный выход флуоресценции хлорофилла на свету;

- *F*_{*m*} максимальный выход флуоресценции хлорофилла;
- F_v/F_m потенциальный квантовый выход фотосистемы II;
- GFP зелёный флуоресцентный белок;
- *NPQ* нефотохимическое тушение флуоресценции хлорофилла;
- Р текущий уровень сигнала Р700;

Р'_m – максимальное изменение сигнала Р700 на свету;

- *Р_m* максимальное изменение сигнала Р700 фотосистемы I;
- ROI область интереса;
- V_{деп.} скорость деполяризации вариабельного потенциала;
- V_{распр.} скорость распространения вариабельного потенциала;

ΔU – внеклеточно регистрируемая разность потенциалов;

- Φ_{PSI} квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы I;
- Φ_{PSII} квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы II.

ВВЕДЕНИЕ

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 территорий перспективных систем радионуклидами ЛО космических жизнеобеспечения (Geras'kin, 2016; Baranova et al., 2019; Ludovici et al., 2020; Duarte et al., 2023; Pozolotina et al., 2023). Механизмы влияния ИИ на живые организмы, в том числе растения, является 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 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

различных физиологических процессов, направленное на повышение устойчивости (Zandalinas et al., 2018; Sukhov et al., 2019 Szechynska-Hebda et al., 2022). Одним из типов значимых сигналов, возникающих в ответ на быстронарастающие стрессоры, являются электрические сигналы. Сопровождающие их сдвиги концентраций ионов и величины pН 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 практически отсутствуют. В мировой литературе имеются только отдельные 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; Babina et al., 2020; Huang et al., 2022; Tan et al., 2023). Между тем, имеются основания полагать, что сигнальные системы растений, включая дистанционные стрессовые сигналы, обладают большей радиочувствительностью сравнении базовыми В с физиологическими процессами, и уже в диапазоне малых доз ИИ может иметь место модификация их параметров. 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 стрессфакторам 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 pH.

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

8

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 школаконференция 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» (Пущино, 2018), Съезд биофизиков России (Сочи, 2019; Краснодар, 2023), конференция Международная научно-практическая «Ядерно-физические исследования и технологии в сельском хозяйстве» (Обнинск, 2020), Съезд по 2021), Международная молодежная радиационным исследованиям (Москва, конференция проблемы радиобиологии, «Современные радиоэкологии И агроэкологии» (Обнинск, 2021), Годичное собрание Общества физиологов растений России (Нижний Новгород, 2022).

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 на иностранном языке.

Благодарности

Диссертационное исследование выполнено при частичной поддержке государственного задания FFUF-2022-0008 и проекта Национальный центр физики и математики (НЦФМ) «Экспериментальная лабораторная астрофизика и геофизика».

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Влияние ИИ на растения

1.1.1. Основные закономерности влияния ИИ на живые организмы

Ионизирующее излучение представляет собой потоки фотонов, элементарных частиц или осколков деления атомов, способных ионизировать вещество. Минимальную энергию, необходимую для отрыва электрона от свободного атома в его низшем энергетическом состоянии, называют энергией ионизации. Для нейтральных атомов энергия ионизации изменяется от 3,9 эВ (Cs) до 24,6 эВ (He). Для живых систем особое значение имеет энергия ионизации их основного компонента – воды. Эта величина, равная 12,6 эВ (Ward, 1988), служит для разделения ионизирующих и неиоинзирующих излучений.

Расчёты и эксперименты показывают, что в живых организмах порядка 70-80% процентов повреждений, вызванных ИИ, связаны не с прямым действием облучения на органические молекулы, а с продуктами радиолиза воды – активными формами кислорода (АФК) (Esnault et al., 2010). АФК обычно являются сильными окислителями и крайне реакционноспособными соединениями. К основным типам АФК относятся супероксиданион-радикал ($O_2^{-\bullet}$), гидроксильный радикал (OH[•]), гидроперекисный радикал (HO_2^{\bullet}), перекись водорода (H_2O_2), синглетный кислород $({}^{1}O_{2})$ и т.д. (Tan et al., 2023). Увеличение внутриклеточной концентрации АФК свыше уровня антиоксидантной защиты вызывает «окислительный стресс» (Kreslavskii et al., 2012; Waszczak et al., 2018; Mittler et al., 2022), который сопровождается окислением различных классов органических молекул, включая липиды, белки и ДНК (Davies, 2005; Bruskov et al., 2012; Miret, Munne-Bosch, 2015; Chernikov et al., 2017; Kim et al., 2019). Повреждения молекул ДНК зачастую являются одной из основных причин пострадиационной клеточной гибели. В результате действия ИИ в молекулах ДНК образуются одно- и двунитевые разрывы. Большая часть таких повреждений репарируема, однако ошибки при репарации могут приводить к хромосомным аберрациям, возникновению и закреплению в популяции различных мутаций. Кроме

того, двунитевые разрывы ДНК посредством АТМ-киназы активируют сигнальные каскады, запускающие физиологические стрессовые ответы клетки, включая системы репарации, контроля клеточного цикла, синтеза белков и др. (Culligan et al., 2006; Esnault et al., 2010; Kim et al., 2019; Manian et al., 2021).

Для противодействия развитию окислительного стресса в живых системах присутствует большое количество различных антиоксидантов (Blokhina et al., 2003; Sharapov et al., 2017; Noctor et al., 2018; Tan et al., 2023). Благодаря им живые системы способны поддерживать стационарный физиологический уровень АФК и, как следствие, свой окислительно-восстановительный гомеостаз.

Необходимо отметить, что изменение концентрации АФК относительно стационарного уровня может не только повреждать молекулы клеток, но и выполнять в живых системах сигнально-регуляторную роль (Shabala et al., 2015; Jalmi et al., 2018; Mittler et al., 2022). Современная концепция рассматривает три основных механизма запуска АФК сигналов: 1) АФК сенсоры 2) изменение внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала и 3) образование окислительных модификаций белков (Kreslavskii et al., 2012; Czarnocka, Karpinski, 2018). Основными мишенями АФК являются такие белки, как тирозиновые протеинкиназы, тирозиновые протеинфосфотазы, серин/треонин киназы, металопротеиназы, АФК-чувствительные ионные каналы и другие белки-компоненты сигнальных каскадов. Другой заметной мишенью являются пептидные факторы роста. Считается, что для данных соединений основным механизмом активации с помощью АФК, является окисление и восстановление цистеиновых аминокислотных остатков (Waszczak et al., 2018). Окислительно-восстановительная регуляция у растений также активно происходит на уровне транскриптома, за счёт изменения окислительного статуса транскрипционных и ядерных факторов, что в существенной степени влияет на уровни экспрессии генов (Dietz, 2014; Smirnoff, Arnaud, 2019). Как структурные повреждения и модификации, так и активация сигнальных путей приводит к изменению роста и развития живых организмов.

1.1.2. Влияние ИИ на рост и развитие растений

В соответствии с физическими представлениями, механизмы взаимодействия излучения с веществом остаются неизменными во всём диапазоне доз (Зайнуллин, Евсеева, 2011; Marcu et al., 2013). При этом биологические эффекты в зависимости от величины приложенной дозы существенно различаются как количественно, так и качественно. В целом, малые дозы ИИ стимулируют, а высокие – ингибируют рост и развитие растений (Timofeev-Resovsky, Poryadkova, 1956; De Micco et al., 2011; Volkova et al., 2022). Систематическое изучение действия ИИ на основные морфометрические параметры разных видов растений позволило определить ориентировочные границы доз, оказывающих разнонаправленные (стимулирующие или ингибирующие) эффекты (Gudkov et al., 2019). Показано, что ускорение темпов роста и развития растений наблюдается при действии излучений на семена в дозах 5-20 Гр и вегетирующие растения в дозах 1-5 Гр. Этот диапазон для растений можно определить как область малых доз. При увеличении поглощённой дозы свыше обозначенных пределов имеет место торможение роста и развития). Если до наступления угнетения каких-либо процессов имеется краткосрочный период активации, можно говорить о средних дозах. Им соответствуют диапазоны от 20 до 100 Гр при действии ИИ на семена и от 5 до 50-70 Гр при облучении вегетирующих форм. Дозы превышающие указанные пределы относят к большим (рис. 1). Радиочувствительность может быть существенно скорректирована в зависимости от вида и сорта растения, стадии его развития и физиологического статуса (Kuzin et al., 1976; Kim et al., 2011b; Sidler et al., 2015; Vitale et al., 2022).



Рисунок 1. Схематическое представление изменений интенсивности физиологических процессов растений после воздействия ИИ в различных дозах. 1 – длительная радиостимуляция; 2 – кратковременная радиостимуляция; 3 – кратковременная радиостимуляция и долговременное радиоингибирование; 4 – радиоингибирование; 5 – радиоингибирование приводящее к краткосрочной гибели (Gudkov et al., 2019)

Длина и вес растений, как правило, рассматриваются как суммарный показатель реакции растений на ИИ, однако он складывается из реакций на облучение отдельных частей или органов растения, а также взаимодействия между ними. Анализ показывает, что длина и вес корней обычно изменяются сильнее, чем аналогичные параметры побегов при тех же дозах ИИ (Vandenhove et al., 2010; Vanhoudt et al., 2010; Desai, Rao, 2014; Beyaz et al., 2016). Необходимо подчеркнуть, что все изменения в показателях роста и развития, возникающие после облучения, являются следствием влияния радиации на молекулярные механизмы, лежащие в основе биохимических и физиологических процессов.

1.1.3. Влияние ИИ на физиологические процессы растений

Несмотря на универсальность механизмов действия ИИ при взаимодействии с молекулами, при переходе на более высокие уровни организации живых систем возникает большое разнообразие эффектов, вызываемых облучением. Для объяснения

основных закономерностей формирования целостного ответа растений на ИИ необходим анализ ответов отдельных физиологических процессов.

Процессы биосинтеза. ИИ оказывает влияние на биосинтез как основных структурных и функциональных компонентов клетки (белки, углеводы и липиды), так и вторичных метаболитов. Наиболее изучены механизмы действия облучения на синтез белков и разнообразных вторичных метаболитов.

На растениях, выращенных из облучённых семян, продемонстрировано, что средние и высокие дозы ИИ, как правило, приводят к накоплению в тканях растворимого белка (Ling et al., 2008; Kim et al., 2009; Mohammed et al., 2012; Desai, Rao, 2014). В области малых доз могут наблюдаться нелинейные эффекты различной направленности (Kim et al., 2004; Ling et al., 2008; Kumar et al., 2017). Наблюдаемые при действии ИИ изменения в содержании белка могут быть результатом изменения соотношения скоростей его деградации и синтеза. Образующиеся при облучении АФК вызывают окисление белков, что может приводить к сокращению времени их функционирования. Обнаружено, что после облучения происходит накопление белков с убиквитиновыми метками, т.е. повреждённых и готовых к протеолитической деградации, однако активность протеасом после облучения падает (Pervan et al., 2005). В итоге это может приводить к повышенному содержанию белка, но функциональная активность молекул может быть утеряна. Влияние ИИ на скорость синтеза белка непосредственно на растениях, по-видимому, не исследовалось. На цианобактериях показано, что при облучении в высоких (летальных) дозах происходит быстрое и необратимое торможение синтеза белка (Agarwal et al., 2008).

После облучения изменяется не только общая скорость синтеза и деградации, но и профиль синтезируемых белков (Gicquel et al., 2011). В основе этого лежит регуляция транскрипции и трансляции. Необходимо отметить, что об изменении содержания какого-либо белка обычно судят на основании уровня экспрессии генов. Однако после воздействия стрессоров, в том числе ИИ, наблюдается плохая корреляция между уровнями мРНК и транслируемых с них белков (Lü et al., 2006; Gicquel et al., 2011; Gicquel et al., 2012). Это происходит потому, что синтез белка зависит не только от активности транскрипции соответствующего гена, но и от множества посттранскрипционных событий, включая инициирование трансляции мРНК (Lü et al., 2006; Braunstein et al., 2009; Trivigno et al., 2013). Более того, трансляция оказалась на порядок чувствительнее к ИИ, чем транскрипция (Lü et al., 2006).

В результате облучения у растений существенно возрастает содержание многих вторичных метаболитов (Dixit et al., 2010; Popovic et al., 2013; Taheri et al., 2014; Vardhan, Shukla, 2017; Wang et al., 2022), являющихся эффективными протекторными соединениями (антиоксидантами) при окислительных стрессах различной природы. К основным группам относятся фенольные соединения, терпеноиды и азотсодержащие соединения (Vardhan, Shukla, 2017). При действии ИИ синтез, по-видимому, запускается повышенной концентрацией АФК (Kreslavskii et al., 2012). Такой эффект АФК реализуется различными путями: как за счёт возрастания экспрессии генов ключевых ферментов их биосинтеза (El-Beltagi et al., 2011; Gicquel et al., 2012), так и увеличения удельной активности этих ферментов (Vardhan, Shukla, 2017). В результате происходит накопление терпеноидов, алкалоидов, фенолов в целом и флавоноидов в частности. Ещё одним путём увеличения содержания концентрации вторичных метаболитов может быть распад полимерных цепочек до мономеров и их высвобождение из состава гликозидов (Ben Salem et al., 2013).

Фотосинтез. В связи с особой значимостью фотосинтеза как для функционирования индивидуальных растительных организмов, так и для биосферы в целом, этому процессу в радиобиологии растений уделено большое внимание (De Micco et al., 2011; Jan et al., 2011; Ali et al., 2015; Duarte et al., 2023). ИИ влияет на различные компоненты фотосинтетического аппарата, включая пигмент-белковые комплексы, ответственные за поглощение света, электрон-транспортной цепи (ЭТЦ) тилакоидов, функционирование которой ведёт к формированию электрохимического градиента протонов, ферменты темновой стадии, в ходе которой происходит фиксация CO₂.

Одной из ключевых мишеней ИИ являются фотосинтетические пигменты. Облучение вызывает дозозависимое изменение как содержания, так и соотношения пигментов. При действии малых доз ИИ (не более 5 Гр) содержание хлорофилла обычно остаётся неизменным, или же происходит увеличение его содержания (Chandorkar, Clark, 1986; Mohammed et al., 2012; Marcu et al., 2013a; Singh et al., 2013; Vanhoudt et al., 2014; Vitale et al., 2022; Wang et al., 2022). Увеличение дозы ИИ ведёт к падению содержания хлорофилла и каротиноидов (Jia, Li, 2008; Ling et al., 2008; Alikamanoglu et al., 2011; Goh et al., 2014; Hong et al., 2014). Вызванное ИИ снижение содержания хлорофилла может быть связано с подавлением синтеза пигментов, их окислением под влиянием АФК (Dartnell et al., 2011), а также нарушением формирования антенных комплексов фотосистем (Shesterikova et al., 2023). Ещё одним процессом, влияющим на общее содержание хлорофилла в клетке после облучения, является изменение количества и размера хлоропластов (Kim et al., 2011b; De Micco et al., 2014). Вклад определённого механизма, вероятно, зависит от вида растений и условий облучения, при этом могут проявляться разнонаправленные эффекты.

Влияние ИИ на состояния цепи переноса электронов показано на сегодняшний день для целого ряда высших растений и водорослей. Важнейшими показателями эффективности первичных процессов фотосинтеза является квантовый выход фотохимических реакций фотосистемы II (Φ_{PSII}) и скорость транспорта электронов по электрон-транспортной цепи (ETR). Высокие дозы острого облучения вызывают быстрое снижение этих показателей (Agarwal et al., 2008; Jia, Li, 2008; Gomes et al., 2017), продолжающееся неделями (Fan et al., 2014; Guadagno et al., 2019). При малых дозах и хроническом облучении может иметь место возрастание квантового выхода фотохимических реакций и скорости транспорта электронов по цепи (Vanhoudt et al., 2014; Biermans et al., 2015). Потенциальный квантовый выход фотосистемы II (F_v/F_m),

более радиорезистентна. В целом F_v/F_m имеет сходную с Φ_{PSII} и ETR направленность изменений, но более медленную динамику развития (Moon et al., 2008; Kim et al., 2011b; Fan et al., 2014; Guadagno et al., 2019). Работы, преимущественно последних лет, позволили установить, что эффекты ИИ на первичные процессы фотосинтеза могут быть связаны с изменением экспрессии соответствующих генов. Так, в частности, различные дозы ИИ изменяют экспрессию генов белков фотосистемы II, нескольких хлоропластных НАДН-дегидрогеназ, компонентов цитохрома b6 и др. (Kim et al., 2007; Gicquel et al., 2012; Van Hoeck et al., 2017; Shesterikova et al., 2023). Другой потенциальной мишенью для регуляции представляются подвижные переносчики электронов, т.к. на них в наибольшей степени влияет изменяющиеся при действии ИИ свойства мембраны (Benderitter et al., 2003; Zhirnov et al., 2010). Эти факторы, вызывающие рассогласование ЭТЦ хлоропластов, вероятно, также будут приводить к увеличению продукции АФК за счёт переноса электронов на кислород с образованием супероксидного анион-радикала (O₂-•) в районе акцепторной стороны Ι фотосистемы 3a счёт И пластохинонового пула. хлоропластной супероксиддисмутазы образующийся О2-• будет здесь же трансформироваться в пероксид водорода (H₂O₂) – одну из наиболее долгоживущих форм АФК, выполняющую различные регуляторные функции (Mubarakshina, Ivanov, 2010). Ещё одной формой АФК, продукция которой повышается при рассогласовании ЭТЦ хлоропластов, может являться синглетный кислород, образующийся в результате миграции энергии с триплетного хлорофилла светособирающего комплекса или реакционного центра фотосистемы II (Kreslavskii et al., 2012). Возрастающее у облучённых растений нерегулируемое нефотохимическое тушение флуоресценции (NPQ) способствует частичной компенсации этих процессов, однако компенсаторная ёмкость, по-видимому, оказывается недостаточной.

Под действием ИИ происходит изменение интенсивности поглощения CO₂, который в ходе темновой стадии фотосинтеза восстанавливается до органических соединений. Такие изменения имеют место в широком диапазоне доз как при остром,

так и при хроническом облучении. У наиболее радиочувствительных растений облучение вызывает снижение интенсивности ассимиляции СО₂ уже при 0,12 Гр хронического (Chandorkar, Clark, 1986) и 1,2 Гр острого облучения (McCabe et al., 1979). Более высокие дозы также вызывают длительное выраженное угнетение этого параметра (Hadley, Woodwell, 1965; Ursino, 1973; Thiede et al., 1995; Singh et al., 2013; Fan et al., 2014; Guadagno et al., 2019). Малые дозы ИИ могут оказывать стимулирующий эффект (Ahuja et al., 2014b; Vanhoudt et al., 2014). Одной из причин индуцированных ИИ изменений активности темновой стадии является влияние на ферменты цикла Кальвина, для некоторых их которых показана возможность регуляции по редокс-механизму (Mehta et al., 1992; Cohen et al., 2006). Центральная роль в регуляции отводится Рубиско, удельная активность которого имеет тенденцию к возрастанию при малых дозах ИИ и к снижению при больших (Singh et al., 2013; Ahuja et al., 2014а). Показано нарушение структуры Рубиско, состоящего из нескольких субъединиц, через несколько дней после острого облучения (Arena et al., 2014). Это может быть связано с различающейся чувствительностью к облучению геномов ядра и пластид, поскольку структурные субъединицы Рубиско кодируются ядерным, а регуляторные хлоропластным геномом (Cohen et al., 2006). Помимо активности ферментов цикла Кальвина важным фактором регуляции активности темновой стадии фотосинтеза являются концентрации субстратов и продуктов реакции. Устьичная проводимость и объём межклеточных пространств в мезофилле уменьшаются у облучённых растений, что может влиять на доступность CO₂ (Jia, Li, 2008; Moghaddam et al., 2011; Fan et al., 2014; Arena et al., 2014; De Micco et al., 2014). Кроме того, после острого облучения в хлоропластах обнаруживаются крахмальные зёрна, указывающие на нарушение внутриклеточного транспорта метаболитов (Wi et al., 2005; Kim et al., 2011a).

В целом, необходимо отметить множественность путей влияния ИИ на фотосинтез. Помимо непосредственно повреждения участвующих в реакционных циклах биологических макромолекул значительный вклад вносит нарушение

регуляции, процессов экспрессию осуществляемую через генов, редоксчувствительные сайты ферментов, а также посредством модификации липидного состава мембран. Важным потенциальным механизмом влияния ИИ на фотосинтез, который в настоящее время не освящён в научной литературе, может являться изменение ионного состава внутри- и внеклеточной среды. Особая роль принадлежит Η+, поскольку всех этапах фотосинтеза существенным концентрации на регуляторным фактором является величина рН (рН цитозоля, хлоропластов и апопласта, градиент H⁺ на цитоплазматической и тилакоидных мембранах) (Sukhov et al., 2014; Shikanai, 2016; Sukhov, 2019). В свою очередь, ключевой фермент поддержания pH – H⁺-АТФаза плазматических мембран – является потенциальной мишенью ИИ, а для другого фермента, поддерживающего клеточный рН-гомеостаз, V-АТФазы тонопласта, напрямую показана регуляция при изменении концентрации A Φ K (Ozolina et al., 2011; Cosse, Seidel, 2021).

Дыхание. Дыхание является очень радиорезистентным процессом, даже при высоких дозах ИИ его интенсивность растёт (Hadley, Woodwell, 1965; Ursino et al., 1974; Ursino et al., 1977; Stoeva et al., 2001). При хроническом облучении в малых дозах интенсивность дыхания существенно не изменяется (Ursino, 1973), хотя в отдельных работах отмечено некоторое уменьшение (Chandorkar, Clark, 1986). Отсутствие корреляции между интенсивностью дыхания и устьичной проводимостью у облучённых растений (Ursino et al., 1977) свидетельствует об отсутствии лимитирования со стороны скорости поступления O_2 к клеткам и указывает на зависимость от внутриклеточных регуляторных процессов. Одним из значимых регуляторов дыхания является изменение соотношения $AT\Phi/AД\Phi$. При действии ИИ такое соотношение может уменьшаться (Vasilenko, Sidorenko, 1996) из-за возросшего потребления $AT\Phi$, необходимого для восстановления вызванных ИИ нарушений, а также из-за долговременного снижения интенсивности другого генерирующего $AT\Phi$ процесса – фотосинтеза (De Micco et al., 2011; Fan et al., 2014; Vitale et al., 2022). Можно предположить, что рост интенсивности дыхания при стрессовых условиях может являться компенсаторным процессом и способствовать поддержанию пула АТФ при частично угнетённом фотосинтезе. Причём подобная регуляция может осуществляться не только за счёт изменения количества АТФ и АДФ, но и благодаря другим сигналам со стороны хлоропластов (Araujo et al., 2014).

Транспорт. Дальний транспорт играет важную роль в жизни растения как целого организма, в силу наличия выраженных донорно-акцепторных отношений между его отдельными частями. У облучённых растений показано нарушение поглощения корнем и транспорта по растению минеральных элементов, а также дальнего транспорта фотоассимилятов (Shelp et al., 1979; Vanhoudt et al., 2010; Kim et al., 2011a; Singh et al., 2013; Kumar et al., 2017). В качестве возможного механизма предположено угнетение фотофосфорилирования и снижение содержания АТФ, что ведёт к подавлению энергозависимых процессов, в том числе, транспорта (McCabe et al., 1979; Vasilenko, Sidorenko, 1996). Другим возможным механизмом является изменение величины аттрагирующего эффекта со стороны органов акцепторов, что связано с изменением гормонального статуса растений (Gudkov et al., 2019).

Имеющий место в растениях перенос на большие расстояния ассимилятов и минеральных элементов по сосудам ксилемы и флоэмы, во многом определяется работой осуществляющих загрузку и выгрузку транспортируемых соединений мембранных переносчиков. Работа таких переносчиков, относящихся к системам вторичного активного транспорта, зависит от величины электрохимического градиента протонов, который создаётся Н⁺-АТФазой плазматических мембран (Cosse, Seidel, 2021; Fuglsang, Palmgren, 2022). О возможном изменении активности протонной АТФазы под влиянием ИИ может свидетельствовать наблюдаемое после облучения острого временное (на несколько часов) исчезновение фотоиндуцированного возрастания мембранного потенциала (Esch et al., 1964), которое в норме обусловлено увеличением активности этого фермента. Изменение электрического потенциала плазматической мембраны при облучении отмечено и в других работах (Marčiulionienė et al., 2017). Направленность и выраженность эффекта зависят от дозы: при облучении в малых дозах более выражено временное возрастание потенциала, при облучении в больших дозах – снижение (Esch et al., 1964). Наряду с изменением активности протонной АТФазы возможной причиной наблюдаемых эффектов может быть изменение активности ионных каналов, вносящих вклад в формирование мембранного потенциала. В первую очередь это касается К⁺-каналов (Tishkin et al., 2007; Marčiulionienė et al., 2017), но ИИ также влияет на проницаемость мембраны для ионов Cl^- и Ca^{2+} (Sevriukova et al., 2014). Имеющие место при облучении изменения в активности мембранных транспортёров могут быть вызваны их физиологической регуляцией. В частности, АФК являются эффективными регуляторами активности протонной АТФазы и ионных каналов (Kuo et al., 1993; Demidchik, 2018; Majumdar, Kar, 2018). Также АФК-индуцированное перекисное окисление липидов изменяет химический состав и физические свойства мембраны, в том числе влияя на её вязкость и поверхностный заряд, может приводить к нарушению формирования правильного окружения белков-транспортёров и, как следствие, их активности (Benderitter et al., 2003; Zhirnov et al., 2010; Taheri et al., 2014).

В целом, обзор спектра физиологических изменений, вызываемых облучением, демонстрирует, что в реализацию эффектов ИИ помимо структурных нарушений большой вклад вносят сигнально-регуляторные системы. Выполненный анализ позволяет предположить высокую радиочувствительность сигналинга, что может влиять не только на развитие ответов непосредственно на действие ИИ, но и на способность облучённых растений формировать устойчивость к другим факторам среды.

1.2. Сигнальные системы растений

Растения обладают развитой системой стрессовой сигнализации, основанной на распространении сигналов различной природы, что во многом обусловлено их прикреплённым образом жизни. Большая часть стрессоров воспринимается локально – или зонами растений, на которые направлено воздействие, или зонами, наиболее

чувствительными к действию фактора. Для развития скоординированного ответа на неблагоприятные условия и формирования устойчивости на уровне всего организма по растению распространяются стрессовые сигналы (Choi et al., 2017; Li et al., 2021; Cai et al., 2023; Myers et al., 2023).

1.2.1. Типы дистанционных стрессовых сигналов растений

Большинство дистанционных стрессовых сигналов растений проходит через три стадии: генерация сигнала в клетках в ответ на действие стимула, распространение сигнала по проводящим тканям, развитие функционального ответа на сигнал в отдалённых от зоны его генерации клетках. На стадиях, связанных с внутриклеточным развитием сигнала, может происходить его коррекция, связанная с взаимодействием компонентом различных сигнальных систем. Это способствует наиболее точной подстройки параметров сигнала с учётом характеристик действующего стрессора, физиологическим статусом растения и наличия других, действующих параллельно, стрессоров (Choi et al., 2016; Gilroy et al., 2016; Zandalinas et al., 2020; Oelmüller, 2021; Roychoudhury, Aftab, 2021; Singh et al., 2021; Costa et al., 2023; Ladeynova et al., 2023).

Традиционно у растений выделяют гидравлические, химические и электрические дистанционные стрессовые сигналы. В особую группу также могут быть выделены трофические сигналы, которые являются следствием изменения метаболической активности разных тканей и органов растений в неблагоприятных условиях. Указанные типы сигналов различаются по механизмам и скоростям распространения, а также параметрам вызываемых ими функциональных ответов (Huber, Bauerle, 2016; Shabala et al., 2016; Costa et al., 2023).

Гидравлические сигналы. Гидравлические сигналы представляют собой распространяющиеся по сосудам изменения давления воды. Это самые быстрые стрессовые сигналы растений. Скорость их передачи достигает скорости распространения звука в воде. В зависимости от типа стимула может иметь место

снижение давления, увеличение давления, а также импульсные скачки повышенного давления в сосудах (Christmann et al., 2013; Lopez et al., 2014; Torres-Ruiz et al., 2015). Снижение давления регистрируется при снижении водного потенциала во время засухи и других стрессов, имеющих осмотическую компоненту (Zhang et al., 2014). Повышение давления регистрируется в результате нагревания или ожога листьев, перемещения воды путём механического изгиба, а также в некоторых случаях под действием засухи (Lopez et al., 2014; Vandeleur et al., 2014; Huber, Bauerle, 2016). В зависимости от типа стрессора генерация гидравлического сигнала может быть связана с изменением тургора клеток корня и листьев в результате возрастания градиентов водного потенциала на границах с почвой и атмосферой и с механическим повреждением сосудов проводящих пучков (Lopez et al., 2014; Huber, Bauerle, 2016). Восприятие гидравлического сигнала происходит за счёт изменения тургора клеток, окружающих сосуды ксилемы, а также за счёт активации на их мембранах механочувствительных кальциевых каналов (Tyree, Yang, 1990; Christmann et al., 2013; Huber, Bauerle, 2016). Физиологическая регуляция генерации и восприятия гидравлического сигнала может осуществляться, преимущественно, на уровне изменения проницаемости мембранных водных каналов – аквапоринов, а также изменения проницаемости устьиц (Vandeleur et al., 2014; Sade et al., 2015). В целом, за счёт малого количества механизмов генерации, восприятия и корректировки сигнала гидравлические сигналы обладают невысокой информативностью о природе действующего фактора. Кодировка сигнала, по-видимому, реализуется за счёт детектирования направления (повышение или понижение давления) и временного паттерна сигнала.

Химические сигналы. Химические сигналы представляют собой разнообразные молекулы, транспортируемые по растению на различные расстояния. Они являются самыми медленными дистанционными сигналами растений (Huber, Bauerle, 2016; Costa et al., 2023). Исключение составляет только небольшая группа газообразных летучих химических сигналов, скорость которых соответствует

скорости диффузии газов (Oelmüller, 2021). Низкая скорость распространения компенсируется большим разнообразием и высокой специфичностью таких сигналов к вызывающему их стрессору. Те или иные химические сигналы могут возникать в ответ на любое воздействие, способное оказывать влияние на растение. К наиболее обширным и изученным группам молекул, участвующих в дистанционном сигналинге, относятся АФК, ионы (в первую очередь, Ca²⁺), фитогормоны, малые РНК, пептиды, белки, мобильные метаболиты (Verma et al., 2016; Oelmüller, 2021; Singh et al., 2021; Cai et al., 2023; Costa et al., 2023). Некоторыми авторами также выделяется сигнал на основе сдвигов pH в апопласте (Felle, 2001). Генерация дистанционных сигналов происходит на мембранах или внутри клеток, воспринявших стрессовое воздействие. Для некоторых химических сигналов, например, АФК и Ca²⁺ волн, характерно самоподдерживающееся распространение за счёт реакций усиления, происходящих в клетках вдоль проводящего пути (Choi et al., 2016; Gilroy et al., 2016; Johns et al., 2021). Восприятие сигнала происходит за счёт рецепторов на мембранах или внутри клеток-мишеней. За счёт высокой степени перекрытия сигнальных путей на уровне клеток возможна подстройка и коррекция сигналов в широком диапазоне. Это обеспечивает высокую информативность химических сигналов и позволяет запускать адаптивные процессы наиболее точно (Roychoudhury, Aftab et al., 2021; Singh et al., 2021; Costa et al., 2023).

Электрические сигналы. Электрические сигналы представляют собой комплексную реакцию, наиболее характерной особенностью которой является распространяющееся изменение мембранного потенциала клеток (Vodeneev et al., 2015; Choi et al., 2016; Szechyńska-Hebda et al., 2022; Fromm, Lautner, 2023). Электрические сигналы занимают промежуточное положение между гидравлическими и химическими сигналами по скорости распространения и полноте передаваемой информации о вызвавшем их стрессоре (Mudrilov et al., 2021). Это, а также широкий спектр факторов, способных вызывать генерацию электрических сигналов (высокая и низкая температура, засуха, механическое повреждение,

поедание травоядными животными, высокая интенсивность света, химические агенты, электрическая стимуляция, ионизирующее излучение), делает электрические сигналы важным фактором при формировании устойчивости растений к быстронарастающим стрессорам среды (Опритов и др., 1991; Vodeneev et al., 2015; Szechyńska-Hebda et al., 2022; Fromm, Lautner, 2023).

1.2.2. Механизмы генерации и распространения электрических сигналов

В настоящее время выделяют четыре типа дистанционных электрических сигналов с различными параметрами: потенциал действия (ПД), вариабельный потенциал (ВП), раневый потенциал (РП) и системный потенциал (СП) (Huber, Bauerle, 2016; Fromm, Lautner, 2023). Ионный механизм изменения мембранного потенциала у всех электрических сигналов сходный и основан на последовательном изменении движущей силы и потоков ионов Ca^{2+} , Cl^- , K^+ , H^+ (Vodeneev et al., 2015). обусловлены Различия между сигналами разных типов, по-видимому, преимущественно различиями в механизмах распространения. Этот параметр имеет особое значение, поскольку электрический обладает сигнал ограниченной способностью к распространению из зоны генерации к зоне восприятия и поддерживается клетками вдоль проводящего пути (Gilroy et al., 2016; Johns et al., 2021).

Потенциал действия является первым открытым у растений электрическим сигналом. Изначально ПД был описан для локомоторных растений (Dionaea *muscipula*, *Mimosa pudica*), позже он также был обнаружен у растений, не обладающих способностью к быстрым движениям листьев (Опритов и др., 1991). ПД возникает в неповреждающие воздействия, такие ответ на как охлаждение, высокая интенсивность света, химические агенты, электрическая и механическая стимуляция, ионизирующее излучение (Fromm et al., 1995; Trebacz et al., 2006; Volkov et al., 2010, 2013; Bohm et al., 2016; Krausko et al., 2017; Pavlovic et al., 2017; Hagihara, Toyota, 2020; Hedrich, Kreuzer, 2023). Реакция имеет форму импульсной деполяризации, её длительность варьирует от долей секунды до нескольких десятков секунд. Распространение ПД происходит по флоэме за счёт восприятия изменённого в соседних зонах потенциала потенциал-зависимыми Ca^{2+} -каналами (Fisahn et al., 2004; Fromm, Lautner, 2023). Генерация ПД запускается входом ионов Ca²⁺ в клетку из апопласта. В результате этого открываются Ca²⁺-зависимые анионные каналы и анионы выходят из клетки по градиенту электрохимического потенциала. Рост внутриклеточного содержания Ca²⁺ также вызывает обратимую инактивацию H⁺-АТФазы. В результате суммы этих процессов формируется фаза деполяризации плазматической мембраны. Изменение потенциала на мембране приводит к активации потенциал-зависимых К⁺-каналов, в результате чего развивается реполяризация. Параллельно в цитоплазме снижается концентрация ионов Ca²⁺, что приводит к восстановлению активности Н⁺-АТФазы (Vodeneev et al., 2015). К отличительным особенностям ПД относится наличие порога возникновения, распространение с постоянной амплитудой и скоростью без затухания, наличие рефрактерного периода, способность распространяться только по живым тканям (Huber, Bauerle, 2016; Fromm, Lautner, 2023).

Вариабельный потенциал является специфической электрической реакцией, характерной только для высших растений. ВП возникает в ответ на повреждающие воздействия, такие как механическое повреждение, поедание травоядными животными, сильный нагрев, ожог (Filek, Koscielniak, 1997; Fromm et al., 2013; Gallé et al., 2015; Vodeneev et al., 2015). Реакция имеет нерегулярную форму. Как правило, имеет место резкий фронт деполяризации, суммарная длительность реакции может измеряться десятками минут и более. Согласно современным представлениям, для распространения ВП требуются взаимоподдерживающиеся волны АФК и Ca²⁺ (Choi et al., 2016; Gilroy et al., 2016; Johns et al., 2021). Совместное распространение волн результате интеграции сигналов. обеспечивается происходит В которая взаимодействием Ca²⁺, поступающего в цитоплазму через АФК-активируемые кальциевые каналы, и АФК (предположительно H₂O₂), продуцируемые Ca²⁺-

активируемой НАДФН-оксидазой плазмалеммы (RBOH). В распространение ВП также вносит вклад гидравлическая волна, которая, как предполагается, ведёт к возрастанию скорости переноса химического компонента сигнала (Vodeneev et al., 2015; Johns et al., 2021). Механизмы генерации ВП аналогичны ПД, однако предполагается различие в задействованных Са²⁺-каналах (вместо потенциали/или участвуют механочувствительные лиганд-управляемые) зависимых И увеличении вклада инактивации Н⁺-АТФазы (Vodeneev et al., 2015). К особенностям ВП относится способность развиваться в период абсолютной рефрактерности для ПД, снижение амплитуды и скорости распространения пропорционально расстоянию до зоны раздражения, зависимость величины ответа от интенсивности повреждающего стимула (Huber, Bauerle, 2016; Fromm, Lautner, 2023).

Раневый потенциал выделен отдельными исследователями как отдельный тип электрического сигнала из-за некоторых отличий от ВП, близкого к нему по параметрам (Huber, Bauerle, 2016). РП возникает в ответ на механические повреждения (ранения) и распространяется за счёт изменения тургора клеток (Zebelo, Maffei, 2012). По ионному механизму генерации РП идентичен ВП, однако он обладает очень малой дистанцией распространения. Он регистрируется на расстояниях, не превышающих несколько сантиметров от зоны повреждения, что является основанием для дискуссии, считать ли РП истинно дистанционным электрическим сигналом (Huber, Bauerle, 2016).

Системный потенциал является наиболее поздно выделенным и наименее изученным типом электрических сигналов растений (Huber, Bauerle, 2016; Sukhov et al., 2019). Ключевым отличием СП от других типов электрических сигналов является обратная направленность изменения мембранного потенциала – гипер-, а не деполяризация. Основным механизмом таких изменений предполагают активацию H⁺-АТФазы. Детальный анализ механизмов генерации и распространения СП к настоящему времени не выполнен. Известно, что СП способен к распространению на

28

длительные расстояния, сигнал не подчиняется правилу «всё или ничего» (Zimmermann et al., 2009).

1.2.3. Индуцированные электрическими сигналами функциональные ответы

Функциональные ответы на электрические сигналы представляют собой физиологических процессов, временное изменение активности статуса внутриклеточных сигнальных систем и уровня экспрессии генов. К ключевым ответам относят изменение интенсивности фотосинтеза, дыхания, синтеза белка, флоэмного транспорта, накопления $AT\Phi$, продукции фитогормонов, и др. (Stankovic, Davies, 1996; Koziolek et al., 2004; Dziubińska et al., 2006; Gallé et al., 2015; Marhavy et al., 2019; Sukhov, 2019; Ladeynova et al., 2020; Khlopkov et al., 2021; Fromm, Lautner, 2023). B целом, такие реакции способствуют развитию устойчивости и адаптации растений за счёт физиологической активности в неблагоприятных снижения условиях, накопления энергии для процессов репарации и синтеза защитных соединений. На протяжении длительного времени считалось, что электрические сигналы представляют собой неспецифическую стрессовую реакцию и не способны нести информацию о вызвавшем их стимуле (Пятыгин и др., 2008). Соответственно, вызванные сигналами функциональные ответы и формируемая ими устойчивость также должна иметь универсальный характер. Подобные представления входят в противоречие с развиваемой в последние годы концепцией о тесной связи между электрическими и другими, обладающими большей специфичностью, сигнальными системами (Pavlovič, Mancuso, 2011; Farmer et al., 2020; Johns et al., 2021; Ladeynova et al., 2023). Для выявления возможной информационной роли электрических сигналов необходимо проведение дополнительного анализа литературы.

Наиболее перспективным представляется рассмотрение параметров функциональных ответов, вызываемых ВП, поскольку этот тип электрических сигналов обладает наиболее разнообразными и нерегулярными формами, которые зависят от типа и режима действия стимула, вызвавшего ВП. Можно выделить три сценария, по которым формируются индуцированные ВП функциональные ответы. Во-первых, ответы с пороговым принципом, где величина порога зависит от исходного статуса растения. Такой вариант показан, например, для экспрессии гена pin2 у растений, дефицитных по абсцизовой кислоте (Herde et al., 1999; Zandalinas et al., 2020). Во-вторых, ответы, способные менять количественные показатели в зависимости от типа и силы стимула и наличия дополнительно действующих факторов. К таким относятся, например, интенсивность фотосинтеза, синтез гормонов, экспрессия некоторых генов (Vian et al., 1999; Suzuki et al., 2013; Vuralhan-Eckert 2018; Zandalinas et al., 2020; Mudrilov et al., 2021). В-третьих, ответы, меняющие выраженность фаз вплоть до полного изменения направленности конечного эффекта в зависимости от природы стимула. Наиболее выражен такой сценарий для ответов устьичной проводимости (Gil et al., 2008; Vuralhan-Eckert et al., 2018; Zandalinas et al., 2020). Для двух последних сценариев показано хорошее соответствие между параметрами функциональных ответов и вызывающих их электрических реакций.

Таким образом, анализ показывает, что большая часть ответов на ВП универсальна и отвечает за общестрессовую реакцию с подавлением активности физиологических процессов. При этом имеет место набор реакций, которые зависят от информации, зашифрованной в сигнале. Эта информация определяет параметры развития устойчивости и адаптации в соответствии с типом, интенсивностью и локализацией действующего стимула, исходным статусом растения и наличием параллельно действующих факторов.

Информационная роль, по-видимому, реализуется через сигнальнорегуляторные системы второй очереди, которые электрические сигналы запускают в клетках и за счёт которых происходит как самоподдерживающееся распространение сигнала, так и его преобразование в функциональный ответ (Choi et al., 2016; Vodeneev et al., 2017; Johns et al., 2021; Ladeynova et al., 2023). Исходя из описанных выше механизмов генерации предполагается, что ключевая роль в этом процессе принадлежит сдвигам концентрации Ca²⁺, AФK, H⁺ и тесно связанному с ними

30

соотношению гормонов. Эти внутриклеточные сигнально-регуляторные системы сами по себе обладают чувствительностью к действию дополнительных факторов и к физиологическому статусу растения (Verma et al., 2016; Köster et al., 2022; Mittler et al., 2022), что делает их вероятными кандидатами на роль корректировщиков электрических сигналов и вызываемых ими устойчивости и адаптации.

1.3. Влияние ИИ на электрические сигналы растений

Более полувека назад было открыто, что ИИ с высокой мощностью дозы может самостоятельно индуцировать электрические сигналы, что напрямую указывает на способность облучения влиять на электрогенез растений. Нужно отметить, что используемые в тот период методы практически не позволяли получить информацию о механизмах такого влияния и работы продолжения не получили.

В ходе изучения феноменологии было показано, что ИИ с высокой мощностью дозы (десятки Гр в минуту) индуцирует распространяющиеся электрические сигналы, вызывающие движение листьев у локомоторных растений (Hug, Miltenburger, 1962; Hug et al., 1964). Пороговая доза для возникновения сигнала различается в зависимости от используемой мощности дозы. Для мимозы (Mimosa pudica) при мощности дозы 45 Гр/мин пороговая доза составляет 15 Гр. Реакции могут наблюдаться и при значительно меньших дозах, но в этом случае они менее резкие или имеют вид очень медленной подпороговой подготовки к генерации сигнала. Отмечается также, что при подпороговом облучении (6,7 Гр/мин) величина порога стимуляции на некоторое время увеличивается (Hug, Miltenburger, 1962), т.е. имеет место явление аккомодации. В реакции выделяют две, по-видимому, независимые компоненты, имеющие различные скорости и дальность распространения: 1) «потенциал действия» со скоростью распространения 1 см/с, длительностью несколько секунд и способностью распространяться только по листу, и 2) ВПобразная медленно распространяющаяся деполяризация со скоростью 0,01 см/с, длительностью 30-60 мин и способностью распространяться как по листу, так и по стеблю (Hug et al., 1964). После облучения и прохождения электрического сигнала наступает рефрактерный период длительностью более часа. При облучении других локомоторных растений (*Dionaea muscipula и Mimulus guttatus*) с мощностью дозы 800 Гр/мин получены аналогичные результаты (Hug, Miltenburger, 1962). Облучение (460 Гр/мин) «обычных» растений (каштана, флоксов, традесканции) электрических сигналов не вызывает, но имеет место электрическая реакция, представленная деполяризацией на 50-60 мВ (Hug et al., 1964).

Несмотря на отсутствие у большинства растений выраженных электрических сигналов, в ответ на ИИ у них изменяется величина мембранного потенциала (Esch et al., 1964; Esch, 1966). Эффект демонстрирует сильную зависимость от дозы (Esch et al., 1964; Esch, 1966). Так, при облучении изолированных клеток нителлы (*Nitella flexilis*) в дозах порядка 6-40 Гр преобладает гиперполяризация, в то время как при больших дозах (70-180 Гр) преобладает деполяризация. На более длительных записях при больших дозах регистрируется типичный ВП (Esch et al., 1964). Эксперименты с пролонгированным облучением показывают, что изменения в разности потенциалов начинаются сразу после появления источника ИИ. После прекращения облучения потенциал постепенно возвращается к первоначальным значениям, причём время восстановления от дозы не зависит (Esch, 1966).

Показано также, что ИИ способно изменять свойства электрических сигналов, вызванных дополнительными стимулами. Такой эффект был выявлен для ПД, вызванных электрической стимуляцией, в клетках водоросли (Esch et al., 1964; Sevriukova et al., 2014). Обнаружено существенное увеличение продолжительности глубокой деполяризации для таких реакций (Esch et al., 1964; Sevriukova et al., 2014). Амплитуда ПД и длительность деполяризации при этом практически не изменялись (Esch et al., 1964).

В экспериментах продемонстрировано, что у облучённых растений изменяется проницаемость мембраны для потенциалоопределяющих ионов, таких как Cl⁻ и K⁺, которые непосредственно участвуют в генерации электрических сигналов (Sevriukova

et al., 2014; Marčiulionienė et al., 2017). Также имеются основания полагать, что ИИ способно влиять на другие компоненты сигнально-регуляторных систем, тесно связанными с генерацией, распространением электрических сигналов и индукцией ими функционального ответа. К таким сигнально-регуляторным системам, в первую очередь, относятся Ca²⁺, АФК, рН и гормоны.

Наиболее изучено влияние ИИ на сигналинг, связанный с АФК. Известно, что возрастание общего содержания АФК (в частности, пероксида водорода) и изменение активности компонент антиоксидантной системы является типичным ответом на действие ИИ (Macovei et al., 2014; Qi et al., 2015; Gomes et al., 2017; Tan et al., 2023). Такое повышение может реализовываться различными путями: в ходе радиолиза воды под действием ИИ, избыточной утечкой АФК из неоптимально функционирующих ЭТЦ хлоропластов и митохондрий и за счёт синтеза АФК-продуцирующими ферментами, в первую очередь, НАДФН-оксидазой (Gudkov et al., 2019). Уровень АФК в целом определяется балансом активности про- и антиоксидантных систем. В ответ на увеличение концентрации АФК в клетке как правило повышается синтез низкомолекулярных антиоксидантов и ферментов антиоксидантной защиты (Macovei et al., 2014; Kebeish et al., 2015; Van Hoeck et al., 2015; Shesterikova et al., 2023). B области малых доз показано существование диапазона, в котором практически отсутствует активация антиоксидантной защиты (Vanhoudt et al., 2010; Smith et al., 2012), но обнаруживается повышение уровня экспрессии генов таких прооксидантных ферментов как липоксигеназы и НАДФН-оксидазы цитоплазматической мембраны (Vandenhove et al., 2010; Biermans et al., 2015; Qi et al., 2015).

Модифицированная облучением система АФК-сигнализации оказывает влияние на другие сигнальные пути в клетке. В последние годы активно обсуждается тесная связь АФК- и Ca²⁺-сигналинга, осуществляемая, главным образом, через АФКзависимые Ca²⁺-каналы и Ca²⁺-активируемые НАДФН-оксидазы (Gilroy et al., 2016; Mittler et al., 2022; Tan et al., 2023). У облучённых растений показано изменение проницаемости мембраны для ионов Ca²⁺ и повышение концентрации Ca²⁺ в цитоплазме (Sevriukova et al., 2014; Xie et al., 2019). Обнаружено также, что различные режимы ИИ изменяют экспрессию ряда компонентов Ca^{2+} сигнальных путей, включая разнообразные МАРК, Ca^{2+} -связывающие белки, транскрипционные факторы с Муb доменом и др. (Kim et al., 2011a; Kim et al., 2012; Goh et al., 2014; Fu et al., 2019).

Гормональные сигналы, которые, с одной стороны, зависят от концентрации Ca^{2+} , с другой стороны, играют важную роль в преобразовании электрических сигналов в функциональный ответ, также проявляют чувствительность к ИИ. Облучение вызывает дозозависимое смещение соотношения основных групп фитогормонов. При малых дозах облучения баланс смещается в сторону стимулирующих гормонов, а при больших – в сторону стрессовых. В явном виде показана способность ИИ влиять на содержание активных форм и экспрессию генов компонентов сигнальных путей таких стимулирующих гормонов как ауксин, цитокинины и гибберелины и таких стрессовых гормонов как этилен, абсцизовая, жасмоновая и салициловая кислоты (АБК, ЖК и СК, соответственно) (Kovalchuk et al., 2007; Latif et al., 2011; Gicquel et al., 2012; Qi et al., 2015; Wang et al., 2016; Bitarishvili et al., 2018).

На сегодняшний день остаются невыясненным, способно ли ИИ влиять на параметры другие типов электрических сигналов, помимо ПД. Есть предпосылки предполагать высокую радиочувствительность ВП, поскольку его генерация и распространение тесно связаны с АФК и Ca²⁺ сигнальными системами, для которых показана высокая чувствительность к ИИ. Для понимания основных механизмов действия облучения на сигналы требуется определение параметров ВП, испытывающих наибольшее влияние ИИ.

В связи со способностью электрических сигналов нести информацию о параметрах вызвавших их стимула, представляется важным изучить возможный эффект облучения на формируемую ВП устойчивость к стресс-факторам. Помимо параметров самого ВП на развитие функциональных ответов, ведущих к развитию устойчивости, также может влиять модификация под действием ИИ процесса преобразования ВП в ответ, реализующегося за счёт внутриклеточных сигнальнорегуляторных систем. Экспериментальных исследований по изучению влияния ИИ на роль электрических сигналов в формировании устойчивости к стресс-факторам, а также механизмов такого влияния к настоящему времени выполнено не было.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

Исследования проводились на 15-16-дневных проростках пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) и 6-недельных растениях табака *Nicotiana tabacum* L. сорта Samsun, трансформированных бинарной векторной системой pART27-ptGFP (NanoLight® Technologies, CША), кодирующей флуоресцентный ратиометрический pH-чувствительный белок Pt-GFP. Растения пшеницы выращивались в сосудах с песком. Посадке предшествовало замачивание семян в водопроводной воде на протяжении 3-х дней. Полив растений пшеницы производили через день водопроводной водой. Растения табака выращивались в сосудах с грунтом универсальным. Полив производили раз в три дня водопроводной водой. Растения выращивались в режиме 16/8 (16 часов свет, 8 часов темнота) при освещении люминесцентными лампами. Температура воздуха составляла 24 °C.

Облучение производилось закрытым точечным источником ⁹⁰Sr-⁹⁰Y (βизлучатель). Радиоактивный источник располагался над растениями, расстояние от источника ИИ до поверхности грунта составляло 30 см, до листьев – 10-20 см (рис. 2). Активность используемого источника составляла 0,1 МБк, мощность дозы на уровне листьев – примерно 31,3 мкГр/час. Контрольные растения выращивались в аналогичных условиях в отсутствии источника ИИ. Облучение начиналось со дня замачивания семян и продолжалось на протяжении всего периода выращивания растений. Общее время облучения проростков пшеницы составляло 15 дней, время облучения растений табака составляло 6 недель. Суммарная накопленная доза для проростков пшеницы – около 11 мГр, для растений табака – около 32 мГр. Для обеспечения равномерного набора дозы сосуды с растениями через день (пшеница) или раз в три дня (табак) перемещались относительно источника ИИ. Контрольные растения перемещались аналогичным образом.


Рисунок 2. Выращивание растений пшеницы в контроле (слева) и в условиях облучения (справа). Символом обозначено положение источника

2.2. Методы исследования

2.2.1. Определение морфометрических показателей

Для проростков пшеницы сравнивались длина и сырой вес побегов, а также сухой вес вторых листьев в группах контроля и облучения. У растений табака определялась площадь листьев, сырой и сухой вес надземной части контрольных и облучённых растений. Длина проростков пшеницы определялась по расстоянию до кончика самого длинного листа. Площадь листьев растений табака рассчитывалась по фотографиям листьев с помощью макроса в программе ImageJ. Для определения сырого веса проводилось взвешивание надземной части растений. Для определения сухого веса образцы высушивались в сухожаровом шкафу в два цикла по 2 часа при температуре 85 °C.

2.2.2. Измерение параметров вариабельного потенциала

Внеклеточная регистрация электрической активности (ΔU) осуществлялась с использованием макроэлектродной техники. Измерения проводились при помощи

хлорсеребряных (Ag⁺/AgCl) макроэлектродов и многоканальной системы для измерения ионных токов Мультитест ИПЛ-113 (Семико, Россия). Контакт электрода с листом осуществлялся через нить, пропитанную стандартным раствором (1 мМ KCl, 0,5 мМ CaCl₂, 0,1 мМ NaCl). Данные обрабатывались в программе param2.

Как при внеклеточной регистрации электрической активности, так и в других сериях экспериментов измерения производились в молодом полностью развитом листе (2-й лист у пшеницы и 5-6 лист у табака). ВП индуцировался постепенным нагревом кончика листа в кювете с водой (для пшеницы) или посредством резистора (для табака). Температура нагрева регистрировалась при помощи измерителярегистратора температуры АТЕ-9380 (Актаком, Россия). Регистрация параметров ВП осуществлялась на стимулируемом листе на различном расстоянии от зоны раздражения (3, 6, 9, 12, 15 см у пшеницы и 1,8 и 3,5 см у табака). Электроды сравнения располагались в районе корней во влажном субстрате.

Адаптация зафиксированных на подставке растений продолжалась 1,5 часа. Потенциал в покое записывался 5 минут, после чего вызывался ВП. Продолжительность нагрева, индуцирующего ВП, составляла 4-7 минут.

Регистрация пороговых условий генерации ВП выполнялась на проростках пшеницы. Нагрев кюветы с водой осуществлялся до момента возникновения реакции на измерительном электроде, располагающемся на расстоянии 3 см от нагреваемой кюветы. Скорость нагрева составляла около 3 градусов/мин.

2.2.3. Регистрация мембранного потенциала и ингибиторный анализ

Регистрация мембранного потенциала (E_m) производилась при помощи электрофизиологической установки SliceScope Pro 2000 (Scientifica, Великобритания). Микропипетки изготавливались на пуллере P-97 (Sutter Instrument, CША). Для работы использовались микропипетки с сопротивлением 12-15 МОм и диаметром кончика порядка 1 мкм. Введение микропипетки в клетку осуществлялось при помощи моторизированных манипуляторов PatchStar под визуальным контролем. Электрод

сравнения располагался в стандартном растворе, омывающем изучаемую область листа. Данные обрабатывались усилителем Multiclamp 700В, и системой сбора данных Digidata1550.

У проростков пшеницы потенциал покоя регистрировался на расстоянии 5-7 см от кончика листа. Измерения производились в паренхимных клетках, окружающих центральную жилку. У растений табака потенциал покоя регистрировался в паренхимных клетках, окружающих боковые жилки, в зонах листа аналогичных используемым для внеклеточной регистрации электрической активности. Адаптация растений в установке продолжалась не менее 1,5 часов.

Для измерения метаболической компоненты мембранного потенциала, которая преимущественно определяется активностью H⁺-ATФазы, применялся ингибитор ингибитор ATФаз P-типа ортованадат натрия (Na₃VO₄). Ингибитор добавлялся в ячейку с листом через несколько минут после устойчивой записи потенциала покоя. Итоговая концентрация Na₃VO₄ в ячейке составляла 5 мM/л. После добавления ингибитора запись продолжалась 10-15 минут до стабилизации потенциала (Yudina et al., 2020).

2.2.4. Измерение параметров фотосинтеза и уровня транспирации

Для регистрации параметров фотосинтеза и уровня транспирации использовался инфракрасный газоанализатор GFS-3000 и PAM-флуориметр Dual-PAM-100 с измерительной головкой Dual-PAM gas-exchange Cuvette 3010-Dual (Heinz Walz GmbH, Германия). Параметры квантового выхода фотохимических реакций фотосистемы I (Φ_{PSI}) и фотосистемы II (Φ_{PSII}) и нефотохимического тушения флуоресценции (*NPQ*) рассчитывались встроенным программным обеспечением прибора по следующим формулам (Maxwell, Johnson, 2000; Klughammer, Schreiber, 2008): $\Phi_{PSI} = (P_m' - P)/P_m$, где $P_m - максимальное$ изменение сигнала Р700 фотосистемы I, отражающее полное окисление Р700, $P'_m - максимальное$ изменение сигнала Р700 на свету, Р – текущий уровень сигнала Р700;

 $\Phi_{PSII} = (F_m' - F)/F_m'$, где F_m – максимальный выход флуоресценции, F'_m – максимальный выход флуоресценции на свету, F – текущий уровень флуоресценции;

 $NPQ = (F_m - F_m')/F_m'.$

Плотность фотонного потока актиничного света (460 нм) составляла 239 µмоль м⁻² с⁻¹. Плотность фотонного потока насыщающих вспышек (635 нм) составляла 9000 µмоль м⁻² с⁻¹. Насыщающие вспышки шли с частотой раз в 10 с. Длительность насыщающих вспышек составляла 300 мс. В измерительной кювете поддерживалась концентрация CO₂ 360 µмоль моль⁻¹, температура 23°C, относительная влажность 60%.

Адаптация растения в установке длилась 45 минут. Запись темновых показателей ассимиляции и устьичной проводимости продолжалась 15 минут, световые показатели регистрировались на протяжении 30 минут. В ходе эксперимента также производилась запись изменений ассимиляции CO₂, показателей флуоресценции хлорофилла и уровня транспирации после прохождения ВП, вызванного нагревом кончика листа. Измерительная головка располагалась на расстоянии 3,5-5 см от зоны стимуляции. Нагрев начинался через 30 мин световой адаптации. Прохождение ВП контролировалось макроэлектродом, расположенном на измеряемом листе.

2.2.5. Пространственно-временное картирование параметров фотосинтеза

Для регистрации пространственно-временных характеристик изменений показателей флуоресценции хлорофилла после прохождения ВП у растений табака использовался PAM-флуориметр Imaging-PAM MINI (Heinz Walz GmbH, Германия). Плотность фотонного потока актиничного света (480 нм) составляла 223 µмоль м⁻² с⁻¹.

Насыщающие вспышки шли с частотой раз в 2 минуты. Размер анализируемой области составлял 3×4 см. Параллельно с регистрацией показателей флуоресценции хлорофилла производилось измерение внеклеточной электрической активности и флуоресценции Pt-GFP в пределах анализируемой области. Для возбуждения флуоресценции Pt-GFP использовались диоды с длиной волны 460 нм и фильтр с длиной волны 538/38 нм.

Темновая адаптация зафиксированного в установке растения продолжалась 60 минут, световая адаптация продолжалась 30 минут. ВП вызывался нагревом кончика листа. Значения фотосинтетических показателей регистрировались в двух областях интереса (ROI), располагающихся на расстоянии 1,8 и 3,5 см от зоны нагрева. Положения ROI соответствовали точкам контакта с электродами, расположенными под листовой пластиной.

Площадь листа, в которой имеет место изменение Φ_{PSII} в ответ на прохождение ВП рассчитывалась по всей анализируемой области. Анализ изображений выполнялся в программе ImageJ по следующему алгоритму: 1) для каждой записи усреднялось по 3 кадра до прохождения ВП (это «начальный уровень»), 2) вычислялась разность между начальным уровнем Φ_{PSII} и каждым из кадров динамики (это «разность»), 3) на каждом кадре разности определялась площадь листа, на которой величина отклонения от начального уровня превышала пороговый уровень. Пороговый уровень был единый для всего эксперимента, и соответствовал 0,05 отн. ед. Φ_{PSII} .

2.2.6. Измерение устойчивости к тепловому стрессу

Устойчивость к тепловому стрессу определялась у растений пшеницы по сохранности фотосинтетических показателей после прогрева (Yudina et al., 2020).

Эксперимент проводился по схеме, представленной на Рисунке 3. Перед помещением растений в стрессовые условия у них регистрировался уровень фотосинтеза в покое. Для регистрации уровня фотосинтетической активности использовался РАМ-флуориметр Imaging-PAM MINI. ВП индуцировался локальным

нагревом кончика 2-го листа. Тепловой стресс вызывался через 45 минут после ВП тотальным прогревом сосуда с растениями в термостате TC-1/80 СПУ (Смоленское СКТБ СПУ, Россия) в течение 45 минут при температуре 50°С. Устойчивость растений к тепловому стрессу оценивалась по уровню остаточного фотосинтеза через 3 и 24 часа после окончания прогрева.



Рисунок 3. Схема изучения устойчивости растений к тепловому стрессу

2.2.7. Измерение внутриклеточного рН и ингибиторный анализ

Величина pH оценивалась у растений табака по уровню флуоресценции генетически кодируемого ратиометрического pH-чувствительного сенсора Pt-GFP (Ageyeva et al., 2022; Pecherina et al., 2022). Флуоресцентные изображения клеток листа табака и спектры флуоресценции Pt-GFP были получены с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM710 с использованием объектива EC Plan Neofluar 20×/0.5 M27 (Carl Zeiss, Германия). Сначала получали флуоресцентные изображения для подтверждения цитоплазматического расположения белка Pt-GFP. Флуоресценция Pt-GFP возбуждалась освещением с длиной волны 405 и 488 нм. Детектирование флуоресценции Pt-GFP производилось на 505-525 нм (для изображений) и 495-600 нм (для спектра), детектирование флуоресценции хлорофилла производилось на 652-685 нм. Величина pH измерялась

по величине отношения флуоресценции Pt-GFP при возбуждении на 488 и 405 нм. Флуоресцентные изображения анализировались в программах Zen 2.1 (Carl Zeiss) и ImageJ. Перевод отношения флуоресценции при 488/405 в pH был выполнен в соответствии с калибровкой в диапазоне pH 5,5-7,5.

Для измерения сдвигов pH, обусловленных подавлением активности протонной АТФазы, применялся Na₃VO₄. Эксперименты проводились на фрагментах листа диаметром 0,6 см. Итоговая концентрация Na₃VO₄ в ячейке составляла 5 мМ/л. Регистрация флуоресценции Pt-GFP осуществлялась непосредственно перед и через 30 мин после добавления ингибитора.

2.2.8. 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). Для возбуждения флуоресценции использовались светодиоды с длиной волны 395/25 и 490/20 нм. Регистрация флуоресценции осуществлялась при помощи СМОЅ-камеры PRIME 95В (Photometrics, США) с применением фильтра 535/43 нм. ратиометрических изображений Для получения использовалось отношение флуоресценции при освещении с длинами волн 490/395 нм. В ходе записи раз в 30 секунд производилось переключение между диодами, что обеспечивало получение ратиометрических изображений с временным разрешением 1 кадр в минуту. Время экспозиции составляло 2 c. Параллельно с регистрацией флуоресценции производилось измерение внеклеточной электрической активности.

Темновая адаптация растений в установке продолжалась 60 минут, световая адаптация продолжалась 30 минут, после этого нагревом кончика листа резистором индуцировался ВП. Значения pH регистрировались в ROI, располагающихся на расстоянии 1,8 и 3,5 см от зоны нагрева. Положения ROI соответствовали точкам контакта с электродами, расположенными под листовой пластиной. Перевод

отношения флуоресценции при 490/395 в pH был выполнен в соответствии с калибровкой в диапазоне pH 5-8.

2.2.9. Статистическая обработка

Для каждого эксперимента использовалось 6 – 30 растений. Для каждой совокупности вычислялись среднее значение и ошибка среднего. Данные проверялись на нормальное распределение, достоверность различий оценивалась по t-критерию Стьюдента. Корреляции определялись по коэффициенту корреляции Пирсона.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ 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. Интегрально эффект действующего фактора может быть оценён по изменениям морфометрических показателей, которые определяются активностью физиологических процессов.

3.1. Влияние ИИ на морфометрические показателей растений пшеницы и табака

В ходе регистрации морфометрических показателей облучённых и контрольных проростков пшеницы значительных различий обнаружено не было (рис. 4). Имело место тенденция к увеличению длины и сырого веса у растений, облучённых в малой дозе ($25,6\pm0,6$ см и 170 ± 6 мг в контроле, $27,3\pm0,8$ см и 172 ± 8 мг под действием ИИ). Увеличение сухого веса 2-го листа, который также был использован для регистрации физиологических показателей, было статистически значимо ($16\pm0,1$ мг в контроле и $18\pm0,2$ мг после облучения).



Рисунок 4. Влияние ИИ на морфометрические показатели пшеницы. * – p<0,05

У растений табака ИИ приводило к существенному возрастанию всех анализируемых показателей (рис. 5). Сырой и сухой вес у контрольных растений составлял 4,0±0,4 г и 0,16±0,02 г соответственно, в то время как у облучённых растений эти показатели находились на уровне $6,3\pm0,6$ г и 0,27±0,02 г соответственно. Площадь листьев у контрольных растений составляла 133,5±13,0 см², под влиянием ИИ этот показатель достигал 195,8±22,3 см².



Рисунок 5. Влияние ИИ на морфометрические показатели табака. * – p<0,05

В нашей работе как для растений пшеницы, так и для растений табака показано некоторое увеличение ряда морфометрических показателей и не обнаружено ингибирования роста и развития (рис. 4, 5). Это эффект, характерный для использованных в работе малых доз ИИ. Для других видов растений в литературе показан схожий эффект (Vanhoudt et al., 2010; De Micco et al., 2011; Singh et al., 2013; Arena et al., 2014; Volkova et al., 2022).

3.2. Влияние ИИ на активность физиологических процессов растений пшеницы и табака

В основе увеличения морфометрических показателей под влиянием ИИ лежит модификация физиологических процессов, в первую очередь, фотосинтеза. Для анализа механизмов влияния ИИ на рост растений регистрировалась активность фотосинтеза. Уровень ассимиляции CO₂ (A) является интегральным показателем фотосинтетической активности. ИИ вызывало существенное увеличение уровня

ассимиляции (рис. 6) у растений пшеницы. У контрольных растений этот параметр в среднем составлял 7,6±0,43 µмоль м⁻² c⁻¹, а у облучённых 9,2±0,38 µмоль м⁻² c⁻¹. Показатели световой стадии фотосинтеза изменялись незначительно. У облучённых растений обнаружены слабые тенденции к возрастанию Φ_{PSI} и Φ_{PSII} и некоторое снижение *NPQ*. F_v/F_m, отражающий структурную целостность фотосистем, под действием ИИ не изменялся.



Рисунок 6. Влияние ИИ на ассимиляцию CO₂ и показатели флуоресценции хлорофилла у растений пшеницы. А – ассимиляция CO₂, F_v/F_m – потенциальный квантовый выход фотосистемы II, Φ_{PSII} и Φ_{PSII} – квантовые выходы фотосистем I и II, NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. * – p<0,05

Для растений табака также показана тенденция к увеличению интенсивности ассимиляции CO₂ под действием ИИ, однако статистически значимые различия отсутствовали (рис. 7). ИИ вызывало достоверное возрастание Φ_{PSII} . В контроле этот показатель составлял 0,44±0,2, а при ИИ – 0,49±0,1. Φ_{PSI} у облучённых растений не отличался от контроля, как и величина F_v/F_m . Уровень *NPQ* при облучении несколько снижался.



Рисунок 7. Влияние ИИ на ассимиляцию CO₂ и показатели флуоресценции хлорофилла у растений табака. А – ассимиляция CO₂, F_v/F_m – потенциальный квантовый выход фотосистемы II, $\Phi_{PSII} = \Phi_{PSII} - \kappa$ вантовые выходы фотосистем I и II, *NPQ* – нефотохимическое тушение флуоресценции. * – p<0,05

Активация фотосинтеза под влиянием ИИ показана в наших экспериментах (рис. 6, 7) и в других исследованиях с использованием малых доз ИИ (Agarwal et al., 2008; Jia, Li, 2008; Fan et al., 2014; Gomes et al., 2017). Стимуляция имеет место как для световой, так и для темновой стадий фотосинтеза (Ahuja et al., 2014a; Vanhoudt et al., 2014). В основе наблюдаемых изменений активности фотосинтеза может лежать как увеличение количества компонентов фотосинтетического аппарата, так и регуляция активности уже имеющихся в клетке систем. Согласно представленным в литературе результатам транскриптомного анализа (Kovalchuk et al., 2007), у растений, хронически облучаемых в малых дозах, не происходит изменения экспрессии связанных с фотосинтезом генов домашнего хозяйства. Это может косвенно указывать на преобладание регуляции фотосинтеза за счёт изменения активности, а не количества задействованных компонентов фотосинтезом машинерии в условиях низкодозового облучения.

Модификация активности фотосинтетического аппарата может быть обусловлено различными причинами, включая изменение доступности субстрата (CO₂), скорости работы систем, превращающих субстрат в продукт (ферменты темновой стадии), скорости оттока готовых ассимилятов. Доступность CO₂ зависит, в первую очередь, от проводимости устьиц. В экспериментах у облучённых растений показано существенное возрастание транспирации – процесса, величина которого в

условиях нормального водообеспечения растений коррелирует с устьичной проводимостью (рис. 8). У пшеницы в контроле величина транспирации составляла $2,3\pm0,24$ ммоль м⁻² с⁻¹, у облучённых растений её уровень достигал $3,2\pm0,37$ ммоль м⁻² с⁻¹.



Рисунок 8. Влияние ИИ на уровень транспирации (E) у растений пшеницы. * – p<0,05

Облучение растений табака также вызывало рост транспирации. Её уровень в контроле составлял 1,09 \pm 0,13 ммоль м⁻² с⁻¹, при облучении – 1,49 \pm 0,07 ммоль м⁻² с⁻¹ (рис. 9).



Рисунок 9. Влияние ИИ на уровень транспирации (E) у растений табака. * – p<0,05

Наблюдаемое в эксперименте возрастание транспирации у растений пшеницы и табака могут объяснять модификацию активности фотосинтеза при облучении. Ранее эффект ИИ на транспирацию был исследован в единичных работах (Jia, Li, 2008; Fan et al., 2014; Vitale et al., 2021). Долговременное изменение уровня транспирации в результате облучения может объясняться как изменением количества устьиц, так и изменением просвета устьичной щели. Оба этих показателя находятся в прямой зависимости от фитогормонов – одной из важнейших сигнальных систем растений (Serna, 2014; Verma et al., 2016; Müller, Munné-Bosch, 2021). Показано, что малые дозы ИИ приводят к сдвигу баланса «стрессовых» и «стимулирующих» гормонов в сторону «стимулирующих», т.е. увеличивается концентрация И усиливаются ПУТИ трансдукции сигнала таких гормонов как ауксин, цитокинины и гибберелины, в то время как аналогичные показатели для этилена и АБК, преимущественно, снижаются (Latif et al., 2011; Qi et al., 2015; Bitarishvili et al., 2018). Следует отметить, что на основании малочисленных имеющихся в литературе данных не представляется возможным однозначно определить закономерности влияния ИИ на количество устьиц и ширину устьичной щели (De Micco et al., 2021; Vitale et al., 2021; De Francesco et al., 2023). При этом в некоторых работах показано лучшее соответствие между интенсивностью транспирации и просветом устьиц, но не их количеством (Roy, 1974; Vitale et al., 2021). Это может свидетельствовать в пользу преимущественного влияния облучения на активность, а не количество компонентов системы.

Важным механизмом повышения уровня ассимиляции CO_2 под действием ИИ также может являться увеличение активности ферментов темновой стадии фотосинтеза. В литературе показано, что при облучении в малых дозах ключевой фермент темновой стадии фотосинтеза Рубиско не только не повреждается, но и увеличивает свою активность (Singh et al., 2012; Arena et al., 2013; Ahuja et al., 2014a). Детального выявления механизмов такой активации, вызванной ИИ, к настоящему времени выполнено не было. Можно предположить, что в основе активации может лежать изменение концентрации фитогормонов. В литературе описано, что такие гормоны как ауксин, цитокинины и гиббереллины увеличивают активность фотосинтетических ферментов и усиливают потребление продуктов фотосинтеза (Müller, Munné-Bosch, 2021).

Ещё одной причиной активации ассимиляции и фотосинтеза в целом может являться ускоренный отток ассимилятов из-за возросшей скорости транспортных

процессов. Основной формой энергии для вторичного трансмембранного транспорта является электрохимический градиент протонов на цитоплазматической мембране. Для изучения возможного влияния ИИ на трансмембранный транспорт, на мембране клеток, окружающих проводящие пучки, в наших экспериментах регистрировались значения электрического потенциала. У облучённых растений пшеницы потенциал достигал -135±1,4 мВ, в то время как у контрольных растений в клетках той же ткани величина потенциала составляла -127±1,7 мВ (рис. 10). Электрический потенциал на мембране диффузионную, обусловленную содержит две компоненты _ стороны мембраны, и метаболическую, распределением ионов ПО разные преимущественно обусловленную работой протонной АТФазы. Добавление ингибитора H⁺-АТФазы Na₃VO₄ вызывает деполяризацию, величина которой отражает долю метаболической компоненты электрического потенциала на мембране. У облучённых растений пшеницы величина деполяризации составила 43±4,0%, у контрольных – 32±2,1%, что может указывать на увеличение активности H⁺-ATФазы под действием радиации.



Рисунок 10. Влияние ИИ на мембранный потенциал и распределение диффузионной (Диф) и метаболической (Мет) компонент потенциала у растений пшеницы. * – p<0,05

У растений табака величина мембранного потенциала определялась в окружающих жилки клетках паренхимы. У растений табака ИИ практически не оказывало влияния на величину мембранного потенциала, однако достоверно увеличивало долю метаболической компоненты, что аналогично результатам,

полученным на растениях пшеницы (рис. 11). В контроле её вклад составлял 27±3%, при облучении это значение возрастало до 35±3%.



Рисунок 11. Влияние ИИ на мембранный потенциал и распределение диффузионной (Диф) и метаболической (Мет) компонент потенциала у растений табака. * – p<0,05

Результаты экспериментов указывают на способность ИИ активировать Н⁺-АТФазу, фермент, который в ходе своей работы переносит протоны из цитоплазмы в Пути протонной АТФазы многообразны апопласт. регуляции могут И реализовываться как на генетическом, так и на физиологическом уровнях. К ключевым механизмам относится, в первую очередь, регуляция концентрацией кальция и фитогормонами (Falhof et al., 2015). В литературе показано, что ИИ влияет на статус обеих указанных сигнальных систем. Активация АТФазы может лежать в основе наблюдаемых в работе эффектов, связанных со стимуляцией физиологических процессов, включая фотосинтез и транспирацию. В результате повышения интенсивности работы H⁺-ATФазы может иметь место 1) увеличение pH цитоплазмы, что может влиять на активность таких фотосинтетических ферментов как Рубиско, рибулозофосфаткиназа, фосфоглицеринового дегидрогеназа 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.

В целом, полученные результаты и данные литературы указывают, что хроническое облучение в малых дозах преимущественно влияет на основные физиологические процессы растений на уровне активности имеющихся в клетке компонентов системы, а не их количества. Об этом свидетельствует отсутствие выраженного эффекта на экспрессию генов «домашнего хозяйства», а также выявленные в ходе анализа множественные потенциальные пути влияния сигнальных систем. Для фотосинтеза к таким сигнальным путям относятся, в первую очередь, гормональная и кальциевая сигнализация, в основе модификации которых, повидимому, лежит индуцированное ИИ повышение концентрации АФК.

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ ИИ НА ВП И ВЫЗЫВАЕМЫЕ ИМ ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОТВЕТЫ

Описанные выше результаты и данные литературы указывают, что 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 (Choi et al., 2016; Huber, Bauerle, 2016, Oelmüller, 2021; Costa et al., 2023;). Можно выделить следующие этапы развития этого процесса: 1) рецепция стрессора, генерация и распространение дистанционного сигнала, 2) развитие вызванных сигналом функциональных ответов, 3) формирование интегральной устойчивости организма к стрессору (рис. 12). Потенциально, модификация каждого из этих этапов под влиянием ИИ может повлиять на итоговую реакцию растения на неблагоприятные условия.



Рисунок 12. Предполагаемая схема формирования индуцированной ВП устойчивости растений к повышенной температуре

В экспериментах анализировалось влияние ИИ на все ключевые этапы процесса: от рецепции стрессора (повышенной температуры) и генерации стрессового

сигнала (ВП) через развитие функционального ответа (снижения фотосинтеза и транспирации) к формированию вызванной сигналом устойчивости. Особое внимание уделено анализу потенциальных механизмов такого влияния.

4.1. Влияние ИИ на генерацию и распространение ВП

При действии стрессовых факторов с высоким градиентом нарастания, например, изменении температуры, существенную роль играет скорость развития устойчивости к стрессору. В подобных условиях высокую значимость имеют пороговые значения стимула, при которых возникает дистанционный сигнал. Изменение таких пороговых значений может оказывать значительное влияние на развитие устойчивости растений к действию стрессоров. Влияние ИИ на пороговые условия возникновения ВП у растений пшеницы изучалось при постепенном нагреве кончика листа в кювете с водой. Обнаружено, что ИИ способствует снижению пороговой температуры, при которой возникает ВП. У контрольных растений температура возникновения реакции составляла $67,3\pm0,7$ °C, у облучённых растений ВП регистрировался при достижении температуры воды $65,3\pm0,6$ °C (рис. 13).



Рисунок 13. Влияние ИИ на пороговую температуру, при которой возникает ВП у растений пшеницы. Слева приведена типичная запись динамики температуры в нагревательной кювете и индуцированных нагревом ВП у контрольного и облучённого растения. Справа приведена диаграмма пороговой температуры, при которой возникает ВП у контрольных и облучённых растений. ΔU – внеклеточно регистрируемая разность потенциалов. * – p<0,05

Возникнув локального раздражения наиболее В зоне ИЛИ В зоне, чувствительной к стрессору при его системном действии, 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. У проростков пшеницы индуцированный нагревом ВΠ распространялся практически до основания стимулируемого листа. Обнаружено, что ИИ значительно усиливало вызванные нагревом ВП (рис. 14). Величина различий между сигналами у контрольных и облучённых растений возрастала по мере удаления от места стимуляции. Так, на расстоянии 12 см от стимулируемого кончика листа у контрольных растений наблюдалась амплитуда 10,3±3,6 мB, а у облучённых 48,7±6,0 мВ. Скорость деполяризации в этой зоне у контрольных растений составляла 1,2±0,60 мB/c, у облучённых растений – 5,0±0,83 мB/c. Скорость распространения ВП в этой области составляла 1,73±0,21 мм/с в контроле и 4,58±0,52 мм/с под действием ИИ. У облучённых растений сигнал распространялся на большее расстояние, зачастую дальность его распространения ограничивалась только длиной стимулируемого листа.



Рисунок 14. Влияние ИИ на параметры индуцированного нагревом вариабельного потенциала у растений пшеницы. 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 (А_{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

У растений табака ВП, распространяясь из зоны стимуляции, охватывал всю листовую пластинку и переходил далее в стебель. Подобно сигналам в листе пшеницы, у растений табака ВП несколько затухал по мере удаления от места воздействия. Облучение не оказывало значительного эффекта на амплитуды ВП в обеих зонах регистрации в пределах стимулируемого листа, однако имела место некоторая тенденция к усилению сигнала у облучённых растений (рис. 15).

57



Рисунок 15. Влияние ИИ на параметры индуцированного нагревом вариабельного потенциала у растений табака. 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 диаграмме приведены амплитуды ВП у контрольных и облучённых растений. Э1 и Э2 – измерительные электроды. Расстояние от резистора до электродов 1 и 2, соответственно 1,8 и 3,5 см. ΔU – внеклеточно регистрируемая разность потенциалов. А_{ВП} – амплитуда ВП

В наших экспериментах было обнаружено, что ИИ усиливает дистанционные электрические сигналы растений. На это указывает увеличение ряда параметров ВП у облучённых растений: амплитуда, распространения, скорость скорость деполяризации и площадь охваченной сигналом области. Ранее в литературе было показано, что ИИ может влиять на другой тип электрических сигналов – ПД, что выражалось в увеличении длительности реполяризации (Esch et al., 1964; Sevriukova et al., 2014). Для интерпретации полученных в наших экспериментах результатов требуется рассмотрение особенностей генерации и распространения ВП – изучаемого В ПД. работе электрического сигнала. отличие ВΠ В OT не является самораспространяющейся реакцией (Vodeneev et al., 2015). За его распространение отвечает неустановленное к настоящему времени вещество, способное к переносу по проводящим пучкам и вызывающее изменение потенциала при контакте с клеточными мембранами. Согласно современным представлениям, в качестве такого вещества могут выступать AФK (Choi et al., 2016; Gilroy et al., 2016; Demidchik, 2018; Johns et al., 2021). Наиболее долгоживущая форма АФК – H₂O₂ – не только активно распространяется из зоны повреждения, но и может дополнительно синтезироваться

НАДФН-оксидазами плазматической мембраны, по мере распространения сигнала на большие расстояния. Как было подробно описано выше, генерация ВП происходит при последовательном изменении проницаемости мембраны для отдельных ионов. Ключевыми участниками реакции представляются АФК-активируемые кальциевые каналы, Са²⁺-чувствительные анионные каналы, потенциал-зависимые калиевых каналов выходящего тока, протонная АТФаза и НАДФН-оксидазы плазматической мембраны (Vodeneev et al., 2015). 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 непосредственно процесса генерации сигнала. Главным фактором, изменяющимся в состоянии покоя, нам представляется изменение мембранного потенциала. В наших экспериментах было показано, что ИИ несколько повышает электрический потенциал на мембране клеток, что может объясняться возрастанием активности протонной АТФазы (рис. 10, 11). Повышение электрохимического градиента на мембране может увеличивать движущую силу для анионов, что будет приводить к регистрируемому в эксперименте усилению ВП – увеличению скорости деполяризации и возрастанию амплитуды сигнала. Ещё один потенциальный механизм, обуславливающий модификацию облучённых растений в состоянии покоя, может быть связан с изменением уровня экспрессии генов белков-транспортёров, участвующих в электрофизиологических реакциях. Однако анализ влияния ИИ на уровень экспрессии затруднён из-за недостаточной охарактеризованности белков, задействованных в генерации электрических сигналов (Demidchik, 2018; Fromm, Lautner, 2023). В отдельных работах сообщается об увеличении под действием ИИ уровня экспрессии гена анионного канала SLAC1 (Duarte et al., 2019), который является одним из вероятных участников электрических реакций.

В процессе генерации ВП к радиации, по-видимому, наиболее чувствителен этап, связанный с сопряжением АФК и Ca²⁺ сигнальных систем. Известно, что хроническое облучение в малых дозах способствует усилению экспрессии генов белков, задействованных в АФК-сигналинге. В частности, показан эффект на экспрессию таких продуцентов АФК как НАДФН-оксидазы (Vandenhove et al., 2010; Biermans et al., 2015; Qi et al., 2015). Происходящее в результате этого увеличение концентрации АФК может способствовать снижению порогового уровня для открытия АФК-активируемых Ca²⁺-каналов, что ведёт к более интенсивному 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. Таким образом, активация АФК-продуцирующих систем может быть предположена как причина усиления ВП.

4.2. Влияние ИИ на параметры вызванных ВП функциональных ответов у растений пшеницы и табака

При прохождении по листу ВП вызывает разнообразные функциональные ответы. К числу значимых для формирования устойчивости относятся ответы фотосинтеза и транспирации. Ответ фотосинтеза представляет собой переходное снижение интенсивности фотосинтетических процессов, которое проявляется в угнетении ассимиляции CO_2 , Φ_{PSI} , Φ_{PSII} и увеличении *NPQ*. Ответы фотосинтеза у пшеницы развиваются в две фазы: кратковременную, занимающую 3-5 мин и длительную, с достижением максимальной амплитуды примерно через 30 минут, и продолжительностью более часа. Обе фазы фотосинтетического ответа у растений пшеницы однонаправлены, изменения наиболее выражены во второй фазе.

В эксперименте показано, что ИИ не оказывает влияния на направленность индуцированных ВП реакций, однако у облучённых растений возрастает их амплитуда (рис. 16). Статистически значимые различия имеют место для ответов ассимиляции СО₂ и Φ_{PSII} . Различия более выражены во время второй фазы развития ответов.



Рисунок 16. Влияние ИИ на вызванные ВП изменения ассимиляции CO₂ и показателей флуоресценции хлорофилла у растений пшеницы. Сверху приведены усреднённые записи изменений ассимиляции и показателей флуоресценции хлорофилла у контрольных и облучённых растений. На диаграмме приведены амплитуды изменений ассимиляции и показателей флуоресценции хлорофилла у контрольных и облучённых растений; за 100% принята амплитуда изменений у контрольных растений. А – ассимиляция CO₂, Φ_{PSI} – квантовый выход фотосистемы I, Φ_{PSII} – квантовый выход фотосистемы II, NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. Пунктиром обозначено время, соответствующее прохождению ВП в зоне регистрации фотосинтетических параметров. Э – измерительные электроды

У растений табака индуцированные ВП ответы фотосинтеза также состоят из двух фаз. Первая представляет собой кратковременное (порядка 10 минут) повышение

интенсивности фотосинтеза (Φ_{PSII} возрастает, *NPQ* снижается), вторая – продолжительное (1,5 часа и более) глубокое подавление фотосинтеза (Φ_{PSII} снижается, *NPQ* возрастает) (рис. 17). Выполненный на растениях табака анализ пространственной динамики вызванных ВП фотосинтетических ответов демонстрирует, что амплитуды изменений показателей флуоресценции хлорофилла уменьшаются по мере удаления от места раздражения.

Показано, что облучение не оказывает влияния на характер вызванных ВП фотосинтетических изменений в целом, однако имеет место выраженный эффект ИИ на их пространственную динамику. Параметры изменений не различаются на малых расстояниях от зоны раздражения: амплитуда снижения Φ_{PSII} в ROI 1 составила 0,09 ± 0,01 в контроле и 0,12 ± 0,01 при ИИ (рис. 17). При этом в ROI 2, находящейся на большем расстоянии, имело место усиление ответов Φ_{PSII} : амплитуда составила 0,07 ± 0,01 в контроле и 0,10 ± 0,01 при ИИ. 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 17. Влияние ИИ на вызванные ВП изменения показателей флуоресценции хлорофилла у растений табака. Слева приведена схема раздражения и расположения областей интереса (ROI). В центре приведены усреднённые записи изменений показателей флуоресценции контрольных и облучённых растений на различном удалении от зоны стимулирования; за ноль приняты уровни Φ_{PSII} и *NPQ* до раздражения. Справа на диаграммах приведены амплитуды изменений показателей флуоресценции у контрольных и облучённых растений. Э1 и Э2 – измерительные электроды. Расстояние от резистора до ROI 1 и 2 составляло 1,8 и 3,5 см. Φ_{PSII} – квантовый выход фотосистемы II, *NPQ* – нефотохимическое тушение флуоресценции. А $_{\Phi PSII}$ – амплитуда изменения Φ_{PSII} . А $_{NPQ}$ – амплитуда изменения *NPQ*. Пунктиром обозначено время, соответствующее прохождению ВП в зоне регистрации фотосинтетических параметров

Для изучения влияния ИИ на особенности пространственной динамики изменений показателей флуоресценции хлорофилла, вызванных ВП, у растений табака измерялась площадь, в которой имеет место отклонение Φ_{PSH} от начального (до генерации ВП) уровня. По мере развития ответа сначала имело место незначительное по амплитуде и продолжительности повышение показателя. На этом этапе площадь, охваченная изменениями, не различалась для растений из групп контроля и ИИ. Выраженное снижение Φ_{PSH} начиналось примерно через 15 минут после ВП. Наиболее выраженные изменения имели место в наиболее близких к месту раздражения жилках (рис. 18). Облучение оказывало значительный эффект на пространственную динамику вызванных ВП изменений показателей флуоресценции хлорофилла, способствуя формированию существенно более быстрых ответов на большей области листа (рис. 18).



Рисунок 18. Влияние ИИ на площадь вызванных ВП изменений Φ_{PSII} в листе табака. (A) – схема эксперимента. (Б) – схема выделения площади листа, в которой имеет место отклонение Φ_{PSII} от начального (до генерации ВП) уровня. (В) – динамика изменения площади, охваченной изменением Φ_{PSII} . (Г) – усреднённые записи динамики площади листа, охваченной фотосинтетическим ответом в листе контрольных и облучённых растений. Пунктиром обозначено время, соответствующее прохождению ВП. Э – измерительный электрод

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. На растениях пшеницы показано, что ИИ существенно увеличивает амплитуду вызванного ВП снижения транспирации. Амплитуда ответа в контроле составляет 2,20±0,23 ммоль м⁻² c⁻¹, при облучении – 3,39±0,27 ммоль м⁻² c⁻¹ (рис. 19).



Рисунок 19. Влияние ИИ на параметры вызванных ВП изменений уровня транспирации (Е) в листе растений пшеницы. Слева приведена схема раздражения и расположения области регистрации транспирации. В центре приведены усреднённые записи изменений уровня транспирации контрольных и облучённых растений; за ноль принят уровень транспирации до раздражения. Справа на диаграмме приведены амплитуды изменений уровня транспирации у контрольных и облучённых растений. Пунктиром обозначено время, соответствующее прохождению ВП. Э – измерительные электроды. А_Е – амплитуда ответов Е. * – p<0,05

У растений табака ответ транспирации на прохождение ВП также представлен двухфазной реакцией. ИИ существенно усиливает вызванное ВП снижение транспирации у растений табака, что аналогично эффекту, зарегистрированному на растениях пшеницы. Амплитуда ответа у контрольных растений табака составляет 0,89±0,09 ммоль м⁻² c⁻¹, у облучённых – 1,20±0,04 ммоль м⁻² c⁻¹ (рис. 20).



Рисунок 20. Влияние ИИ на параметры вызванных ВП изменений уровня транспирации (Е) в листе растений табака. Слева приведена схема раздражения и расположения области регистрации транспирации. В центре приведены усреднённые записи изменений уровня транспирации контрольных и облучённых растений; за ноль принят уровень транспирации до раздражения. Справа на диаграмме приведены амплитуды изменений уровня транспирации у контрольных и облучённых растений. Пунктиром обозначено время, соответствующее прохождению ВП. Э – измерительный электрод. А_Е – амплитуда ответов Е. * – p<0,05

Таким образом, 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. 16, 17, 18, 19). В исследовании ключевых мишеней ИИ основное внимание требуется уделить основным механизмам этапа преобразования ВΠ В функциональный ответ. Развитие фотосинтетического ответа на ВП происходит в две фазы (рис. 16, 17). Первая (кратковременная) фаза у растений пшеницы и табака имеют различную направленность. Последующая длительная фаза представляет собой глубокое ингибирование фотосинтеза у обоих видов растений. Возможным механизмом повышения активности фотосинтеза в ходе первой фазы у табака может кратковременное возрастание устьичной проводимости являться за счёт гидропассивного открывания устьиц сразу после прохождения сигнала (рис. 19). Ингибирование фотосинтеза может реализовываться за счёт двух основных механизмов: 1) через сдвиги рН в цитоплазме и апопласте и 2) через снижение устьичной проводимости и доступности СО₂ за счёт уменьшения тургора замыкающих клеток (Pavlovic, Mancuso, 2011; Bulychev, Komarova, 2014; Sukhov, 2019).

Сдвиги рН, сопровождающие распространение ВП, играют определяющую роль в развитии фотосинтетического ответа. Для изучения влияния ИИ на сдвиги рН у растений табака регистрировались отношения интенсивности флуоресценции Pt-GFP – ратиометрического белка, располагающегося в цитоплазме клеток (рис. 21) (Ageyeva et al., 2022; Pecherina et al., 2022). Флуоресцентный имиджинг на уровне целого растения демонстрирует быстрое и длительное снижение такого отношения интенсивности флуоресценции после прохождения ВП, что указывает на закисление цитоплазмы. Амплитуда реакции в листе контрольных растений составляет порядка 0,25 единиц рН. Подобно изменениям фотосинтеза, сдвиги рН охватывают всю площадь листа, амплитуда снижается по мере удаления от места раздражения. Под влиянием ИИ происходило возрастание амплитуды сдвигов рН и снижение их затухания с расстоянием. В ROI 2 различия статистически значимы: амплитуда сдвигов рН в контроле достигает $0,14\pm0,03$, под действием ИИ – $0,25\pm0,02$ (рис. 21).



Рисунок 21. Влияние ИИ на параметры вызванных ВП сдвигов рН в листе табака. (A) – фото отношения интенсивностей флуоресценции листа табака, экспрессирующего Pt-GFP. (Б) – фото паренхимных клеток листа табака, экспрессирующего флуоресцентный ратиометрический pHчувствительный белок Pt-GFP. Зелёный канал – флуоресценция Pt-GFP, красный канал – флуоресценция хлорофилла. (B) – 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 (Fl_{ratio}). (Д) – типичная запись ВП и вызванного им сдвига pH в листе растения табака. (Е) – амплитуды сдвигов pH в ROI 1 и 2 в листе контрольных и облучённых растений. (Ж) – амплитуды изменений pH (закисления) паренхимных клеток листа табака в ответ на добавление ингибитора H⁺-АТФазы. Расстояние от резистора до ROI 1 и 2 составляло 1,8 и 3,5 см. Э1 и Э2 – измерительные электроды. * – p<0,05

Для сопоставления временных характеристик ВП, сдвигов рН и изменений параметров фотосинтеза эти показатели регистрировались одновременно. Продолжительность сдвига рН значительно превышает продолжительность деполяризации во время генерации ВП и хорошо соответствует изменению показателей фотосинтеза (снижение Φ_{PSII} и повышение *NPQ*) (рис. 21, 22).



Рисунок 22. Динамика вызванных ВП изменений флуоресценции Pt-GFP и показателей флуоресценции хлорофилла у растений табака. Слева приведена схема одновременной регистрации индуцированного нагревом ВП, вызванных им изменений флуоресценции Pt-GFP и показателей флуоресценции хлорофилла. Права приведена типичная запись вызванных ВП изменений флуоресценции Pt-GFP (Fl) и показателей флуоресценции хлорофилла. Пунктиром обозначено время, соответствующее прохождению ВП. Fl – флуоресценция Pt-GFP, Φ_{PSII} – квантовый выход фотосистемы II, *NPQ* – нефотохимическое тушение флуоресценции. Э – измерительный электрод

Выявление роли H⁺-АТФазы в эффектах ИИ на pH производилось при помощи специфического ингибитора Na₃VO₄. Величина pH у растений табака в отсутствие ингибитора и после его добавления определялась по флуоресценции pHчувствительного зонда Pt-GFP. Показано, что в покое у контрольных и облучённых растений уровень pH не различался, при этом величина pH, в формировании которой принимает участие H⁺-АТФаза, достоверно возрастала вследствие облучения (рис. 21).

Таким образом, в наших экспериментах показано, что ИИ может модифицировать вызванные ВП ответы фотосинтеза за счёт усиления сдвигов pH (рис. 21). Примечательно, что различия между амплитудами сдвигов pH у контрольных и облучённых растений возрастают с увеличением расстояния от места стимуляции, что соответствует характеру фотосинтетических ответов (рис. 17). Известно, что при генерации ВП ингибируется протонная АТФаза – фермент, выкачивающий H⁺ из цитоплазмы и тем самым участвующий в поддержании уровня pH – в результате чего цитоплазма закисляется, а апопласт защелачивается (Yudina et

69

al., 2020). Это служит причиной снижения доступности CO₂ и активности ЭТЦ хлоропластов (Bulychev et al., 2004; Sukhov et al., 2014; Shikanai, 2016; Sukhov et al., 2019). Ингибиторный анализ показал, что усиление сдвигов pH может быть связано с тем, что в условиях облучения активность АТФазы повышена в сравнении с контролем (рис. 21). Это соответствует результатам, полученным при анализе вклада H⁺-АТФазы в мембранный потенциал у облучённых растений (рис. 11).

Вторым путём реализации эффекта ИИ на функциональные ответы может являться влияние на степень открытости устьиц, оцениваемую по величине транспирации. ИИ усиливает спад транспирации, вызываемый прохождением ВП (рис. 19, 20). В качестве наиболее вероятного механизма долговременного закрывания устьиц, вызванного ВП, рассматривается временное повышение концентрации стрессовых гормонов, в первую очередь ЖК и АБК (Huber and Bauerle, 2016; Farmer et al., 2020; Johns et al., 2021; Ladeynova et al., 2023). В качестве наиболее значимых механизмов регуляции содержания стрессовых фитогормонов, способных изменять устьичный просвет при ВП, предполагаются сопровождающие электрический сигнал сдвиги pH и концентрации ионов кальция (Ladeynova et al., 2023). В наших экспериментах напрямую было показано увеличение сдвигов рН у облучённых растений (рис. 21), а усиление ВП позволяет также предположить усиление сдвигов концентрации ионов кальция (рис. 14). Кроме того, известно, что малые дозы ИИ способны изменять статус гормональной системы, влияя на концентрацию и компоненты сигнальных путей важнейших гормонов, регулирующих устьица (Qi et al., 2015; Wang et al., 2016; Bitarishvili et al., 2018).

Представляется логичным, что усиленные под действием ИИ электрические сигналы вызывают более интенсивные функциональные ответы за счёт более выраженных ионных сдвигов, сопровождающих сигнал. Для проверки связи между этими показателями был рассчитан коэффициент корреляции между амплитудами ВП и вызываемых им фотосинтетических ответов. У контрольных растений пшеницы показано наличие положительной корреляции место между амплитудой ВП и амплитудами ответов Φ_{PSII} и NPQ – наиболее значимых для формирования устойчивости к стрессорам показателей. Обнаружено, что у облучённых растений пшеницы корреляции существенно нарушаются или полностью исчезают (рис. 23).



Рисунок 23. Влияние ИИ на корреляции между амплитудами ВП и вызванных им изменений показателей флуоресценции хлорофилла у растений пшеницы. Слева представлена схема раздражения и расположения электродов и области регистрации показателей флуоресценции хлорофилла. Φ_{PSII} – квантовый выход фотосистемы II, NPQ – нефотохимическое тушение флуоресценции. А ϕ_{PSII} – амплитуда изменения Φ_{PSII} . А $_{NPQ}$ – амплитуда изменения NPQ. Э – измерительные электроды. Значения коэффициентов корреляции (r) приведены на диаграммах. * – p<0,05

Для определения этапа, на котором происходит нарушение линейной связи между амплитудами ВП и ответов фотосинтеза, на растениях табака с генетически кодируемым сенсором pH в дополнение к фотосинтезу анализировались коэффициенты корреляции между амплитудами ВП и сдвигов pH. У контрольных растений эти показатели связаны, между ними имеют место статистически значимые корреляции (рис. 24). Для амплитуд ВП и вызываемых ими сдвигов pH величина корреляции под влиянием облучения существенно снижалась (рис. 24).



Рисунок 24. Влияние ИИ на корреляции между амплитудами ВП и вызванных им изменений показателей флуоресценции хлорофилла и сдвигов pH 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. А ϕ_{PSII} – амплитуда изменения Φ_{PSII} . А $_{NPQ}$ – амплитуда изменения NPQ. А $_{pH}$ – амплитуда изменения pH. 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 ВΠ. амплитуд По-видимому, место формирование выраженного имеет фотосинтетического ответа при более низких амплитудах стрессового сигнала. На это также указывает увеличение радиацией площади охвата листа реакцией (рис. 18) при минимальных отличиях в параметрах сигнала (рис. 15). Можно предположить, что нарушение корреляции происходит вследствие модификации под действием ИИ процессов, ответственных за индукцию им функционального ответа. Как было описано выше, индукция ответа фотосинтеза связана 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 pH фотосинтеза». ингибирование Известно, в частности, что зависимость

72
интенсивности световой фазы от концентрации протонов в люмене проявляется в определённом диапазоне pH (рис. 25) (Kramer et al., 1999; Takizawa et al., 2007). Предполагая изначально больший градиент на тилакоидной мембране у облучённых растений и более сильные сдвиги рН в ходе ВП (рис. 21), мы получаем отличный от контроля диапазон изменений концентрации протонов люмена. В этом случае к будут приводить фотосинтетическим ответам сильным даже относительно низкоамплитудные сигналы, что и было получено в нашем эксперименте (рис. 23, 24). При этом ВП с большой амплитудой, преобладавшие у облучённых растений, повидимому, 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 pH» (рис. 24). Следует отметить, что помимо обнаруженного в ходе работы возрастания активности АТФазы плазматической мембраны (рис. 10, 11, 21) эффект, теоретически, также может быть связан с другим ферментом pH-гомеостаза – вакуолярной H⁺-АТФазой и с изменением активности К⁺-каналов, способных корректировать электрохимический градиент для H⁺ (Adem et al., 2020; Cosse, Seidel, 2021). И для вакуолярной H⁺-ATФазы и для К⁺-каналов описана регуляция ИИ или АФК, которые в значительном количестве генерируются в ходе облучения (Marčiulionienė et al., 2017; Cosse, Seidel, 2021).



Рисунок 25. Схема, отражающая предполагаемые механизмы нарушения корреляции между амплитудами ВП и ответов фотосинтеза за счёт выхода сдвигов pH за пределы линейной регуляции

Eщë потенциальной причиной нарушения корреляции одной 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; Wang et al., 2016). 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. ВЛИЯНИЕ 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 этом не приводила к гибели растений от перегрева. процессов и при Высокотемпературный стресс вызывал снижение уровня Φ_{PSII} на 37±11% через 3 часа после прогрева. У облучённых проростков эффект теплового стресса был выражен значительно слабее: уровень Φ_{PSII} у них снижался на 10±5%. У контрольных растений ВП способствовал поддержанию более высокого уровня фотосинтеза после теплового стресса. Так, через 3 часа после прогрева у растений, у которых не было предварительного ВП, уровень Φ_{PSII} спадал на 37±11%, в то время как у растений с ВП это параметр снижался на 10±4%. У облучённых растений наблюдалась обратная ситуация: уровень фотосинтеза, незначительно подавлявшийся после теплового стресса (на 10±5%), в случае предшествующего прогреву распространения ВП снижался существенно (подавление на 31±8%). Через 3 часа после прогрева различия между группами имели достоверный характер, через 24 часа сохранялись на уровне выраженных тенденций (рис. 26).



Рисунок 26. 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 обозначены 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. * – р<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 (Sukhov et al., 2019; Szechynska-Hebda et al., 2022). Снижение активности ЭТЦ хлоропластов является одним из универсальных механизмов повышения устойчивости фотосинтетического аппарата к различным стрессорам, включая высокую температуру (Allakhverdiev et al., 2008). Эффект ИИ, по-видимому, связан с повышенным уровнем транспирации (рис. 8, 9), 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 (рис. 27).

76

В случае распространения ВП, которое предшествовало нагреву (тепловому стрессу) имеет место противоположный эффект: у необлучённых растений – повышение устойчивости, у облучённых – понижение. У необлучённых растений описанный выше защитный эффект от ВП-индуцированного снижения активности фотосинтеза превосходил негативное влияние ВП-индуцированного понижения транспирации (рис. 27). У облучённых растений, вследствие усиления ВПиндуцированного ответа транспирации происходило более значительное в сравнении контролем увеличение температуры листа. Негативный эффект от столь С значительного увеличения температуры уже не мог быть компенсирован защитным эффектом от снижения активности фотосинтеза (рис. 27). Примечательно, что на протяжении последовательности событий, обуславливающих восприятие стимула, распространение ВП, развитие возникновение И функционального ответа, направленность реакций у контрольных и облучённых растений совпадала, различие касалось исключительно амплитуд, области охвата и характерных времён. Тем не менее, это привело к инвертированию параметров формируемой устойчивости к стрессору. Здесь мы имеем дело с явлением, когда вмешательство на уровне сигнальных систем и избыточно-сильные ответные реакции организма приводят к качественно новому результату.

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 27. 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 **vстойчивость** стресс-факторам выявлено К 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 закрыванием устьиц. Следует отметить, что раскрытые в работе механизмы являются частью общей картины влияния ИИ на процесс формирования индуцированной сигналами устойчивости. Анализ данных литературы и результатов собственных экспериментов указывает на необходимость продолжения работы с целью выявления роли других участников стрессового сигналинга, в частности, АФК-Са²⁺ и гормональной регуляции – как на уровне активности сигнальных путей, так и на уровне генетической регуляции количества их компонентов.

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 сигнальнорегуляторных систем, задействованных, в частности, в процессе преобразования сигнала в функциональный ответ. За счёт стимулирования активности H⁺-ATФазы облучение усиливает вызванные ВП сдвиги pH.

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 ЛИТЕРАТУРЫ

- Зайнуллин, В. Г. Эколого-генетические механизмы реакции биологических систем (от клетки до популяции) на низкоинтенсивные воздействия / В. Г. Зайнуллин, Т. И. Евсеева // Вестник ИБ Коми НЦ УрО РАН. – 2011. – № 4-5 (162-163). – С. 29-33.
- Опритов, В. А. Биоэлектрогенез у высших растений / В. А. Опритов, С. С. Пятыгин, В. Г. Ретивин. М.: Наука, 1991. 216 с.
- Пятыгин, С. С. Сигнальная роль потенциала действия у высших растений / С. С. Пятыгин, В. А. Опритов, В. А. Воденеев // Физиология Растений. 2008. V. 55, № 2. Р. 312-319.
- Adem, G. D. Gork Channel: A Master Switch of Plant Metabolism? / G. D. Adem, G. Chen, L. Shabala, Z. H. Chen, S. Shabala // Trends Plant Sci. 2020. V. 25, № 5. P. 434-445.
- Agarwal, R. Effects of (60)Co Gamma Radiation on Thylakoid Membrane Functions in Anacystis Nidulans / R. Agarwal, S. S. Rane, J. K. Sainis // J Photochem Photobiol B. – 2008. – V. 91, № 1. – P. 9-19.
- Ageyeva M. Cell-Type-Specific Length and Cytosolic pH Response of Superficial Cells of Arabidopsis Root to Chronic Salinity / M. Ageyeva, A. Veselov, V. Vodeneev, A. Brilkina // Plants (Basel). – 2022. – V. 11, № 24.
- Ahuja, S. Metabolic and Biochemical Changes Caused by Gamma Irradiation in Plants / S. Ahuja, M. Kumar, P. Kumar, V. Gupta, R. K. Singhal, A. Yadav, B. Singh // J Radioanal Nucl Chem. – 2014a. – V. 300. – P. 1-14.
- Ahuja, S. Very Low Dose Gamma Irradiation Stimulates Gaseous Exchange and Carboxylation Efficiency, but Inhibits Vascular Sap Flow in Groundnut (*Arachis Hypogaea* L.) / S. Ahuja, B. Singh, V. K. Gupta, R. K. Singhal, P. Venu Babu // Int J Radiat Biol. – 2014b. – V. 90, № 2. – P. 179-186.
- 9. Alikamanoglu, S. Effect of Gamma Radiation on Growth Factors, Biochemical Parameters, and Accumulation of Trace Elements in Soybean Plants (*Glycine Max* L.

Merrill) / S. Alikamanoglu, O. Yaycili, A. Sen // Biol Trace Elem Res. – 2011. – V. 141, № 1-3. – P. 283-293.

- Allakhverdiev, S. I. Heat Stress: An Overview of Molecular Responses in Photosynthesis / S. I. Allakhverdiev, V. D. Kreslavski, V. V. Klimov, D. A. Los, R. Carpentier, P. Mohanty // Photosynth Res. – 2008. – V. 98, № 1-3. – P. 541-550.
- Araujo, W. L. On the Role of Plant Mitochondrial Metabolism and its Impact on Photosynthesis in Both Optimal and Sub-Optimal Growth Conditions / W. L. Araujo, A. Nunes-Nesi, A. R. Fernie // Photosynth Res. – 2014. – V. 119, № 1-2. – P. 141-156.
- Arena, C. Growth Alteration and Leaf Biochemical Responses in Phaseolus Vulgaris Exposed to Different Doses of Ionising Radiation / C. Arena, V. De Micco, A. De Maio // Plant Biol (Stuttg). – 2014. – V. 16, № 1. – P. 194-202.
- Arnadottir, J. Eukaryotic Mechanosensitive Channels / J. Arnadottir, M. Chalfie // Annu Rev Biophys. – 2010. – V. 39. – P. 111-137.
- Babina, D. Seed Gamma Irradiation of *Arabidopsis thaliana* ABA-Mutant Lines Alters Germination and Does Not Inhibit the Photosynthetic Efficiency of Juvenile Plants / D. Babina, M. Podobed, E. Bondarenko, E. Kazakova, S. Bitarishvili, M. Podlutskii, A. Mitsenyk, A. Prazyan, I. Gorbatova, E. Shesterikova, P. Volkova // Dose Response. – 2020. – V. 18, № 4. – P. 1559325820979249.
- Baluska, F. Ion Channels in Plants: From Bioelectricity, Via Signaling, to Behavioral Actions / F. Baluska, S. Mancuso // Plant Signal Behav. – 2013. – V. 8, № 1. – e23009.
- Baranova, E. N. Wheat Space Odyssey: "From Seed to Seed". Kernel Morphology / E. N. Baranova, M. A. Levinskikh, A. A. Gulevich // Life (Basel). 2019. V. 9, № 4.
- Ben Salem, I. Effect of Ionising Radiation on Polyphenolic Content and Antioxidant Potential of Parathion-Treated Sage (*Salvia Officinalis*) Leaves / I. Ben Salem, S. Fekih, H. Sghaier, M. Bousselmi, M. Saidi, A. Landoulsi, S. Fattouch // Food Chem. - 2013. - V. 141, № 2. - P. 1398-1405.

- Benderitter, M. the Cell Membrane as a Biosensor of Oxidative Stress Induced by Radiation Exposure: A Multiparameter Investigation / M. Benderitter, L. Vincent-Genod, J. P. Pouget, P. Voisin // Radiat Res. – 2003. – V. 159, № 4. – P. 471-483.
- Beyaz, R. the Effect of Gamma Radiation on Seed Germination and Seedling Growth of *Lathyrus chrysanthus* Boiss. Under in Vitro Conditions / R. Beyaz, C. T. Kahramanogullari, C. Yildiz, E. S. Darcin, M. Yildiz // J Environ Radioact. – 2016. – V. 162-163. – P. 129-133.
- 20. Biermans, G. Biological Effects of Alpha-Radiation Exposure by (241)Am in *Arabidopsis thaliana* Seedlings Are Determined Both by Dose Rate and (241)Am Distribution / G. Biermans, N. Horemans, N. Vanhoudt, H. Vandenhove, E. Saenen, M. Van Hees, J. Wannijn, J. Vangronsveld, A. Cuypers // J Environ Radioact. 2015. V. 149. P. 51-63.
- Bitarishvili, S. γ-Irradiation of Barley Seeds and Its Effect on the Phytohormonal Status of Seedlings / S. Bitarishvili, P. Volkova, S. Geras'kin // Russ J Plant Physiol. – 2018. – V. 65. – P. 446-454.
- Blokhina, O. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review / O. Blokhina, E. Virolainen, K. V. Fagerstedt // Ann Bot. – 2003. – V. 91. – P. 179-194.
- 23. Bohm, J. The Venus Flytrap Dionaea Muscipula Counts Prey-Induced Action Potentials to Induce Sodium Uptake / J. Bohm, S. Scherzer, E. Krol, I. Kreuzer, K. von Meyer, C. Lorey, T. D. Mueller, L. Shabala, I. Monte, R. Solano, K. A. Al-Rasheid, H. Rennenberg, S. Shabala, E. Neher, R. Hedrich // Curr Biol. – 2016. – V. 26, № 3. – P. 286-295.
- 24. Braunstein, S. Regulation of Protein Synthesis by Ionizing Radiation / S. Braunstein,
 M. L. Badura, Q. Xi, S. C. Formenti, R. J. Schneider // Mol Cell Biol. 2009. V. 29,
 № 21. P. 5645-5656.
- 25. Bruskov, V. I. Prolongation of Oxidative Stress by Long-Lived Reactive Protein Species Induced by X-Ray Radiation and Their Genotoxic Action / V. I. Bruskov, O.

E. Karp, S. A. Garmash, I. N. Shtarkman, A. V. Chernikov, S. V. Gudkov // Free Radic Res. – 2012. – V. 46, № 10. – P. 1280-1290.

- 26. Bulychev, A. A. Long-Distance Signal Transmission and Regulation of Photosynthesis in Characean Cells / A. A. Bulychev, A. V. Komarova // Biochemistry (Mosc). – 2014. – V. 79, № 3. – P. 273-281.
- 27. Bulychev, A. A. Effect of a Single Excitation Stimulus on Photosynthetic Activity and Light-Dependent pH Banding in Chara Cells / A. A. Bulychev, N. A. Kamzolkina, J. Luengviriya, A. B. Rubin, S. C. Muller // J Membr Biol. 2004. V. 202, № 1. P. 11-19.
- Cai, J. The Role of Long-Distance Mobile Metabolites in the Plant Stress Response and Signaling / J. Cai, D. Li, A. Aharoni // Plant J. – 2023. – V. 114, № 5. – P. 1115-1131.
- 29. Caplin, N. Ionizing Radiation, Higher Plants, and Radioprotection: From Acute High Doses to Chronic Low Doses / N. Caplin, N. Willey // Front Plant Sci. 2018. V. 9. P. 847.
- 30. Chandorkar, K. R. Physiological and Morphological Responses of *Pinus Strobus* L. and *Pinus Sylvestris* L. Seedlings Subjected to Low-Level Continuous Gamma Irradiation at a Radioactive Waste Disposal Area / K. R. Chandorkar, G. M. Clark // Environ Exp Bot. 1986. V. 26. P. 259-270.
- 31. Chernikov, A. V. Exogenous 8-Oxo-7,8-Dihydro-2'-Deoxyguanosine: Biomedical Properties, Mechanisms of Action, and Therapeutic Potential / A. V. Chernikov, S. V. Gudkov, A. M. Usacheva, V. I. Bruskov // Biochemistry (Mosc). 2017. V. 82, № 13. P. 1686-1701.
- 32. Choi, W. G. Rapid, Long-Distance Electrical and Calcium Signaling in Plants / W. G. Choi, R. Hilleary, S. J. Swanson, S. H. Kim, S. Gilroy // Annu Rev Plant Biol. 2016. V. 67. P. 287-307.

- 33. Choi, W. G. Orchestrating Rapid Long-Distance Signaling in Plants with Ca(2+), ROS and Electrical Signals / W. G. Choi, G. Miller, I. Wallace, J. Harper, R. Mittler, S. Gilroy // Plant J. – 2017. – V. 90, № 4. – P. 698-707.
- Christmann, A. Hydraulic Signals in Long-Distance Signaling / A. Christmann, E. Grill, J. Huang // Curr Opin Plant Biol. 2013. V. 16, № 3. P. 293-300.
- 35. Cohen, I. A Conserved Mechanism Controls Translation of Rubisco Large Subunit in Different Photosynthetic Organisms / I. Cohen, Y. Sapir, M. Shapira // Plant Physiol. - 2006. - V. 141, № 3. - P. 1089-1097.
- Cosse, M. Plant Proton Pumps and Cytosolic Ph-Homeostasis / M. Cosse, T. Seidel // Front Plant Sci. – 2021. – V. 12. – P. 672873.
- 37. Costa, A. V. L. Systemic Signals Induced by Single and Combined Abiotic Stimuli in Common Bean Plants / A. V. L. Costa, T. F. C. Oliveira, D. A. Posso, G. N. Reissig, A. G. Parise, W. S. Barros, G. M. Souza // Plants (Basel). 2023. V. 12, № 4.
- Culligan, K. M. ATR and ATM Play Both Distinct and Additive Roles in Response to Ionizing Radiation / K. M. Culligan, C. E. Robertson, J. Foreman, P. Doerner, A. B. Britt // Plant J. – 2006. – V. 48, № 6. – P. 947-961.
- 39. Czarnocka, W. Friend or Foe? Reactive Oxygen Species Production, Scavenging and Signaling in Plant Response to Environmental Stresses / W. Czarnocka, S. Karpinski // Free Radic Biol Med. – 2018. – V., 10.1016/j.freeradbiomed.2018.01.011№
- 40. Dartnell, L. R. Degradation of Cyanobacterial Biosignatures by Ionizing Radiation /
 L. R. Dartnell, M. C. Storrie-Lombardi, C. W. Mullineaux, A. V. Ruban, G. Wright,
 A. D. Griffiths, J. P. Muller, J. M. Ward // Astrobiology. 2011. V. 11, № 10. P.
 997-1016.
- 41. Davies M. J. the Oxidative Environment and Protein Damage / M. J. Davies // Biochim Biophys Acta. – 2005. – V. 1703, № 2. – P. 93-109.
- 42. De Francesco, S. Growth, Anatomical, and Biochemical Responses of the Space Farming Candidate *Brassica rapa* L. Microgreens to Low-Let Ionizing Radiation / S.

De Francesco, C. Amitrano, E. Vitale, G. Costanzo, M. Pugliese, C. Arrichiello, G. Ametrano, P. Muto, C. Arena, V. De Micco // Horticulturae. – 2023. – V. 9. – P. 452.

- De Micco, V. Anatomical Alterations of *Phaseolus vulgaris* L. Mature Leaves Irradiated with X-Rays / V. De Micco, C. Arena, G. Aronne // Plant Biol (Stuttg). – 2014. – V. 16 Suppl 1. – P. 187-193.
- 44. De Micco, V. Effects of Sparsely and Densely Ionizing Radiation on Plants / V. De Micco, C. Arena, D. Pignalosa, M. Durante // Radiat Environ Biophys. 2011. V. 50, № 1. P. 1-19.
- 45. De Micco, V. Effect of Light Quality and Ionising Radiation on Morphological and Nutraceutical Traits of Sprouts for Astronauts' Diet / V. De Micco, C. Amitrano, P. Vitaglione, R. Ferracane, M. Pugliese, C. Arena // Acta Astronautica. – 2021. – V. 185. – P. 188-197.
- 46. Demidchik V. ROS-Activated Ion Channels in Plants: Biophysical Characteristics, Physiological Functions and Molecular Nature / V. Demidchik // Int J Mol Sci. – 2018.
 – V. 19, № 4.
- 47. Desai, A. S. Effect of Gamma Radiation on Germination and Physiological Aspects of Pigeon Pea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) Seedlings / A. S. Desai, S. Rao // IMPACT: IJRANSS. 2014. V. 2, № 6. P. 47-52.
- Dietz K. J. Redox Regulation of Transcription Factors in Plant Stress Acclimation and Development / K. J. Dietz // Antioxid Redox Signal. – 2014. – V. 21, № 9. – P. 1356-1372.
- 49. Dixit, A. K. Gamma Irradiation Induced Enhancement in Isoflavones, Total Phenol, Anthocyanin and Antioxidant Properties of Varying Seed Coat Colored Soybean / A.
 K. Dixit, D. Bhatnagar, V. Kumar, A. Rani, J. G. Manjaya, D. Bhatnagar // J Agric Food Chem. – 2010. – V. 58, № 7. – P. 4298-4302.
- Duarte, G. T. the Response Profile to Chronic Radiation Exposure Based on the Transcriptome Analysis of Scots Pine from Chernobyl Affected Zone / G. T. Duarte, P. Y. Volkova, S. A. Geras'kin // Environ Pollut. – 2019. – V. 250. – P. 618-626.

- 51. Duarte, G. T. Chronic Ionizing Radiation of Plants: An Evolutionary Factor from Direct Damage to Non-Target Effects / G. T. Duarte, P. Y. Volkova, F. Fiengo Perez, N. Horemans // Plants (Basel). – 2023. – V. 12, № 5.
- 52. Dziubińska, H. the Effect of Excitation on the Rate of Respiration in the Liverwort Conocephalum Conicum / H. Dziubińska, K. Trębacz, T. Zawadzki // Physiologia Plantarum. – 2006. – V. 75, № 3. – P. 417-423.
- 53. El-Beltagi, H. S. Effect of Low Doses γ-Irradiation on Oxidative Stress and Secondary Metabolites Production of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Callus Culture / H. S. El-Beltagi, O. K. Ahmed, W. El-Desouky // Radiat Phys Chem. 2011. V. 80, № 9. P. 968-976.
- Esch, H. Die Beeinflussung Elektrischer Potentiale Von Algenzellen Durch Röntgenstrahlen / H. Esch, H. Miltenburger, O. Hug // Biophysik. – 1964. – V. 1. – P. 380-388.
- Esch H. E. Dose-Dependent Gamma Irradiation Effects on the Resting Potential of Nitella Flexilis / H. E. Esch // Radiat Res. – 1966. – V. 27. – P. 355-362.
- Esnault, M.-A. Chenal Ionizing Radiation: Advances in Plant Response / M.-A. Esnault, F. Legue, C. Chenal // Environ Exp Bot. 2010. V. 68. P. 231-237.
- 57. Falhof, J. Plasma Membrane H(+)-ATPase Regulation in the Center of Plant Physiology / J. Falhof, J. T. Pedersen, A. T. Fuglsang, M. Palmgren // Mol Plant. – 2016. – V. 9, № 3. – P. 323-337.
- 58. Fan, J. Regulation of Photosynthetic Performance and Antioxidant Capacity by 60Co γ-Irradiation in *Zizania latifolia* Plants / J. Fan, M. Shi, J.-Z. Huang, J. Xu, Z.-D. Wang, D.-P. Guo // J Environ Radioact. – 2014. – V. 129. – P. 33-42.
- 59. Farmer, E. E. Wound- and Mechanostimulated Electrical Signals Control Hormone Responses / E. E. Farmer, Y. Q. Gao, G. Lenzoni, J. L. Wolfender, Q. Wu // New Phytol. – 2020. – V. 227, № 4. – P. 1037-1050.
- 60. Felle H. H. pH: Signal and Messenger in Plant Cells / H. H. Felle // Plant Biol (Stuttg).
 2001. V. 3, №6. P. 577-591.

- 61. Filek, M. The Effect of Wounding the Roots by High Temperature on the Respiration Rate of the Shoot and Propagation of Electric Signal in Horse Bean Seedlings (*Vicia faba* L. Minor) / M. Filek, J. Koscielniak // Plant Science. 1997. V. 123, № 1-2. P. 39-46.
- Fisahn, J. Analysis of the Transient Increase in Cytosolic Ca²⁺ During the Action Potential of Higher Plants with High Temporal Resolution: Requirement of Ca²⁺ Transients for Induction of Jasmonic Acid Biosynthesis and PINII Gene Expression / J. Fisahn, O. Herde, L. Willmitzer, H. Pena-Cortes // Plant Cell Physiol. 2004. V. 45, № 4. P. 456-459.
- 63. Fromm, J. Electrical Signaling and Its Functions under Conditions of Abiotic Stress: A Review of Methodological Approaches and Physiological Implications / J. Fromm, S. Lautner // Methods Mol Biol. – 2023. – V. 2642. – P. 179-193.
- 64. Fromm, J. the Biochemical Response of Electrical Signaling in the Reproductive System of Hibiscus Plants / J. Fromm, M. Hajirezaei, I. Wilke // Plant Physiol. 1995.
 V. 109, № 2. P. 375-384.
- 65. Fromm, J. Electrical Signaling Along the Phloem and Its Physiological Responses in the Maize Leaf / J. Fromm, M. R. Hajirezaei, V. K. Becker, S. Lautner // Front Plant Sci. - 2013. - V. 4. - P. 239.
- 66. Fu, L. Gene Coexpression Analysis Reveals Dose-Dependent and Type-Specific Networks Responding to Ionizing Radiation in the Aquatic Model Plant *Lemna minor* Using Public Data / L. Fu, Z. Ding, A. Kumpeangkeaw, X. Sun, J. Zhang // J Genet. – 2019. – V. 98, №
- 67. Fuglsang, A. T. Proton and Calcium Pumping P-Type ATPases and Their Regulation of Plant Responses to the Environment / A. T. Fuglsang, M. Palmgren // Plant Physiol. 2021. V. 187, № 4. P. 1856-1875.
- Gallé, A. Environmental Stimuli and Physiological Responses: the Current View on Electrical Signaling / A. Gallé, S. Lautner, J. Flexas, J. Fromm // Environmental and Experimental Botany. – 2015. – V. 114. – P. 15-21.

- Geras'kin, S. Influence of Long-Term Chronic Exposure and Weather Conditions on Scots Pine Populations / S. Geras'kin, D. Vasiliyev, E. Makarenko, P. Volkova, A. Kuzmenkov // Environ Sci Pollut Res Int. – 2017. – V. 24, № 12. – P. 11240-11253.
- Geras'kin S. A. Ecological Effects of Exposure to Enhanced Levels of Ionizing Radiation / S. A. Geras'kin // J Environ Radioact. – 2016. – V. 162-163. – P. 347-357.
- Gicquel, M. Application of Proteomics to the Assessment of the Response to Ionising Radiation in *Arabidopsis thaliana* / M. Gicquel, M. A. Esnault, J. V. Jorrin-Novo, F. Cabello-Hurtado // J Proteomics. – 2011. – V. 74, № 8. – P. 1364-1377.
- 72. Gicquel, M. Kinetic Transcriptomic Approach Revealed Metabolic Pathways and Genotoxic-Related Changes Implied in the Arabidopsis Response to Ionising Radiations / M. Gicquel, L. Taconnat, J. P. Renou, M. A. Esnault, F. Cabello-Hurtado // Plant Sci. – 2012. – V. 195. – P. 106-119.
- Gil, P. M. Root to Leaf Electrical Signaling in Avocado in Response to Light and Soil Water Content / P. M. Gil, L. Gurovich, B. Schaffer, J. Alcayaga, S. Rey, R. Iturriaga // J Plant Physiol. 2008. V. 165, № 10. P. 1070-1078.
- Gilroy, S. ROS, Calcium, and Electric Signals: Key Mediators of Rapid Systemic Signaling in Plants / S. Gilroy, M. Bialasek, N. Suzuki, M. Gorecka, A. R. Devireddy, S. Karpinski, R. Mittler // Plant Physiol. 2016. V. 171, № 3. P. 1606-1615.
- Goh, E. J. Physiological Changes and Anti-Oxidative Responses of Arabidopsis Plants after Acute and Chronic Gamma-Irradiation / E. J. Goh, J. B. Kim, W. J. Kim, B. K. Ha, S. H. Kim, S. Y. Kang, Y. W. Seo, D. S. Kim // Radiat Environ Biophys. 2014. V. 53, № 4. P. 677-693.
- 76. Gomes, T. Sensitivity of the Green Algae Chlamydomonas Reinhardtii to Gamma Radiation: Photosynthetic Performance and ROS Formation / T. Gomes, L. Xie, D. Brede, O. C. Lind, K. A. Solhaug, B. Salbu, K. E. Tollefsen // Aquat Toxicol. 2017. V. 183. P. 1-10.
- Grams, T. E. Distinct Roles of Electric and Hydraulic Signals on the Reaction of Leaf Gas Exchange Upon Re-Irrigation in *Zea mays* L / T. E. Grams, C. Koziolek, S.

Lautner, R. Matyssek, J. Fromm // Plant Cell Environ. – 2007. – V. 30, № 1. – P. 79-84.

- Guadagno, C. R. Gas Exchange and Chlorophyll a Fluorescence Measurements as Proxies of X-Ray Resistance in *Phaseolus vulgaris* L / C. R. Guadagno, M. Pugliese, S. Bonanno, A. M. Manco, N. Sodano, N. D'Ambrosio // Radiat Environ Biophys. – 2019. – V. 58, № 4. – P. 575-583.
- 79. Gudkov, S. V. Effect of Ionizing Radiation on Physiological and Molecular Processes in Plants / S. V. Gudkov, M. A. Grinberg, V. Sukhov, V. Vodeneev // J Environ Radioact. – 2019. – V. 202. – P. 8-24.
- Hadley, E. B. Effects of Ionizing Radiation on Rates of CO₂ Exchange of Pine Seedlings / E. B. Hadley, G. M. Woodwell // Radiat Res. – 1965. – V. 24. – P. 650-656.
- Hagihara, T. Mechanical Signaling in the Sensitive Plant Mimosa pudica L / T. Hagihara, M. Toyota // Plants (Basel). – 2020. – V. 9, № 5.
- Hedrich, R. Demystifying the Venus flytrap Action Potential / R. Hedrich, I. Kreuzer
 // New Phytol. 2023. V. 239, № 6. P. 2108-2112.
- 83. Herde, O. Electric Signaling and PIN2 Gene Expression on Different Abiotic Stimuli Depend on a Distinct Threshold Level of Endogenous Abscisic Acid in Several Abscisic Acid-Deficient Tomato Mutants / O. Herde, H. Pena Cortes, C. Wasternack, L. Willmitzer, J. Fisahn // Plant Physiol. – 1999. – V. 119, № 1. – P. 213-218.
- 84. Hong, M. J. the Effects of Chronic Gamma Irradiation on Oxidative Stress Response and the Expression of Anthocyanin Biosynthesis-Related Genes in Wheat (*Triticum aestivum*) / M. J. Hong, J. B. Kim, Y. H. Yoon, S. H. Kim, J. W. Ahn, I. Y. Jeong, S. Y. Kang, Y. W. Seo, D. S. Kim // Int J Radiat Biol. – 2014. – V. 90, № 12. – P. 1218-1228.
- 85. Huang, Y. Physiologic and Molecular Responses of Indica-Japonica Subspecies Tetraploid Rice Seed Germination to Ion Beams / Y. Huang, J. Li, Q. Huang // Sci Rep. – 2022. – V. 12, № 1. – P. 17847.

- 86. Huber, A. E. Long-Distance Plant Signaling Pathways in Response to Multiple Stressors: the Gap in Knowledge / A. E. Huber, T. L. Bauerle // J Exp Bot. – 2016. – V. 67, № 7. – P. 2063-2079.
- 87. Hug, O. Strahlen Induzierte Turgorbewegungen (Radionastien) Bei Mimosa und Andere Sensitive Pflanzen / O. Hug, H. Miltenburger // the Science of Nature. – 1962.
 – V. 49. – P. 499-500.
- Hug, O. Elektrophysiologische Begleiterscheinungen Strahleninduzierter Bewegungen bei Mimosen / O. Hug, H. Miltenburger, H. Esch // Biophysik. – 1964.
 V. 1. – P. 374-379.
- Jalmi, S. K. Traversing the Links between Heavy Metal Stress and Plant Signaling /
 S. K. Jalmi, P. K. Bhagat, D. Verma, S. Noryang, S. Tayyeba, K. Singh, D. Sharma,
 A. K. Sinha // Front Plant Sci. 2018. V. 9. P. 12.
- 90. Jan, S. Effect of Gamma Radiation on Morphological, Biochemical, and Physiological Aspects of Plants and Plant Products / S. Jan, T. Parween, T. O. Siddiqi, Mahmooduzzafar // Environ Rev. – 2011. – V. 20, №
- 91. Jia, C. F. Effect of Gamma Radiation on Mutant Induction of Fagopyrum Dibotrys Hara / C. F. Jia, A. L. Li // Photosynthetica. – 2008. – V. 46. – P. 363-369.
- Johns, S. the Fast and the Furious: Rapid Long-Range Signaling in Plants / S. Johns,
 T. Hagihara, M. Toyota, S. Gilroy // Plant Physiol. 2021. V. 185, № 3. P. 694-706.
- 93. Kebeish, R. Effects of Gamma Radiation on Growth, Oxidative Stress, Antioxidant System, and Alliin Producing Gene Transcripts in Allium Sativum / R. Kebeish, H. Deef, N. El-Bialy // IJRSB. – 2015. – V. 3, №
- 94. Khlopkov, A. Participation of Calcium Ions in Induction of Respiratory Response Caused by Variation Potential in Pea Seedlings / A. Khlopkov, O. Sherstneva, M. Ladeynova, M. Grinberg, L. Yudina, V. Sukhov, V. Vodeneev // Plant Signal Behav. 2021. V. 16, № 4. P. 1869415.

- 95. Kim, D. S. Antioxidant Response of Arabidopsis Plants to Gamma Irradiation: Genome-Wide Expression Profiling of the ROS Scavenging and Signal Transduction Pathways / D. S. Kim, J. B. Kim, E. J. Goh, W. J. Kim, S. H. Kim, Y. W. Seo, C. S. Jang, S. Y. Kang // J Plant Physiol. – 2011a. – V. 168, № 16. – P. 1960-1971.
- 96. Kim, J.-H. Alterations in the Photosynthetic Pigments and Antioxidant Machineries of Red Pepper (*Capsicum Annuum* L.) Seedlings from Gamma-Irradiated Seeds / J.-H. Kim, M.-H. Baek, B. Yeoup Chung, S. G. Wi, J.-S. Kim // J Plant Biol. 2004. V. 47. P. 314-321.
- 97. Kim, J.-H. Chung Characterization of Metabolic Disturbances Closely Linked to the Delayed Senescence of Arabidopsis Leaves after γ Irradiation / J.-H. Kim, M. Hee Lee, Y. Ran Moon, J.-S. Kim, S. G. Wi, T. Hoon Kim, B. Yeoup Chung // Environ Exp Bot. – 2009. – V. 67. – P. 363-371.
- 98. Kim, J. H. Ionizing Radiation Manifesting DNA Damage Response in Plants: An Overview of DNA Damage Signaling and Repair Mechanisms in Plants / J. H. Kim, T. H. Ryu, S. S. Lee, S. Lee, B. Y. Chung // Plant Sci. – 2019. – V. 278. – P. 44-53.
- 99. Kim, J. H. Transcriptomic Profile of Arabidopsis Rosette Leaves During the Reproductive Stage after Exposure to Ionizing Radiation / J. H. Kim, Y. R. Moon, J. S. Kim, M. H. Oh, J. W. Lee, B. Y. Chung // Radiat Res. 2007. V. 168, № 3. P. 267-280.
- 100. Kim, J. H. Photosynthetic Capacity of Arabidopsis Plants at the Reproductive Stage Tolerates Gamma Irradiation / J. H. Kim, Y. R. Moon, M. H. Lee, J. H. Kim, S. G. Wi, B. J. Park, C. S. Kim, B. Y. Chung // J Radiat Res. 2011b. V. 52, № 4. P. 441-449.
- 101. Kim, S. H. Genome-Wide Transcriptome Profiling of ROS Scavenging and Signal Transduction Pathways in Rice (*Oryza Sativa* L.) in Response to Different Types of Ionizing Radiation / S. H. Kim, M. Song, K. J. Lee, S. G. Hwang, C. S. Jang, J. B. Kim, S. H. Kim, B. K. Ha, S. Y. Kang, D. S. Kim // Mol Biol Rep. – 2012. – V. 39, № 12. – P. 11231-11248.

- 102. Klughammer, C. Saturation Pulse Method for Assessment of Energy Conversion in PS I / C. Klughammer, U. Schreiber // PAM Appl Notes. – 2008. – V. 1. – P. 11-14.
- 103. Koster, P. Ca(2+) Signals in Plant Immunity / P. Koster, T. A. DeFalco, C. Zipfel // EMBO J. – 2022. – V. 41, № 12. – P. e110741.
- 104. Kovalchuk, I. Transcriptome Analysis Reveals Fundamental Differences in Plant Response to Acute and Chronic Exposure to Ionizing Radiation / I. Kovalchuk, J. Molinier, Y. Yao, A. Arkhipov, O. Kovalchuk // Mutat Res. – 2007. – V. 624, № 1-2. – P. 101-113.
- 105. Koziolek, C. Transient Knockout of Photosynthesis Mediated by Electrical Signals /
 C. Koziolek, T. E. E. Grams, U. Schreiber, R. Matyssek, J. Fromm // New Phytol. –
 2004. V. 161, № 3. P. 715-722.
- 106. Kramer, D. M. How Acidic is the Lumen? / D. M. Kramer, C. A. Sacksteder, J. A. Cruz // Photosynth Res. 1999. V. 60. P. 151-163.
- 107. Krausko, M. The Role of Electrical and Jasmonate Signalling in the Recognition of Captured Prey in the Carnivorous Sundew Plant Drosera Capensis / M. Krausko, Z. Perutka, M. Sebela, O. Samajova, J. Samaj, O. Novak, A. Pavlovic // New Phytol. – 2017. – V. 213, № 4. – P. 1818-1835.
- 108. Kreslavskii, V. Signaling Role of Reactive Oxygen Species in Plants under Stress / V. Kreslavskii, D. Los, S. Allakhverdiev, V. Kuznetsov // Russ J Plant Physl. 2012. V. 59. P. 141–154.
- 109. Kumar, P. Regulated Partitioning of Fixed Carbon ((14)C), Sodium (Na(+)), Potassium (K(+)) and Glycine Betaine Determined Salinity Stress Tolerance of Gamma Irradiated Pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp) / P. Kumar, V. Sharma, C. K. Atmaram, B. Singh // Environ Sci Pollut Res Int. 2017. V. 24, № 8. P. 7285-7297.
- 110. Kuo, S. S. Potassium-Channel Activation in Response to Low Doses of Gamma-Irradiation Involves Reactive Oxygen Intermediates in Nonexcitatory Cells / S. S.

Kuo, A. H. Saad, A. C. Koong, G. M. Hahn, A. J. Giaccia // Proc Natl Acad Sci. – 1993. – V. 90, № 3. – P. 908-912.

- 111. Kuzin, A. M. Molecular Mechanisms Stimulating the Action of Ionizing Radiation on Seeds. 3. Role of Radiotoxins in Stimulating the Development of Irradiated Seeds / A. M. Kuzin, V. A. Kopylov, M. E. Vagabova // Radiobiologiia. – 1976. – V. 16, № 2. – P. 261-264.
- 112. Ladeynova, M. Integration of Electrical Signals and Phytohormones in the Control of Systemic Response / M. Ladeynova, D. Kuznetsova, M. Mudrilov, V. Vodeneev // Int J Mol Sci. – 2023. – V. 24, № 1.
- 113. Ladeynova, M. Spatial and Temporal Dynamics of Electrical and Photosynthetic Activity and the Content of Phytohormones Induced by Local Stimulation of Pea Plants / M. Ladeynova, M. Mudrilov, E. Berezina, D. Kior, M. Grinberg, A. Brilkina, V. Sukhov, V. Vodeneev // Plants (Basel). – 2020. – V. 9, № 10.
- 114. Latif, H. H. Radio-Stimulation of Phytohormons and Bioactive Components of Coriander Seedlings / H. H. Latif, M. A. Abdalla, S. A. Farag // Turk J Biochem. – 2011. – V. 36. – P. 230-236.
- 115. Li, H. How Roots and Shoots Communicate through Stressful Times / H. Li, C. Testerink, Y. Zhang // Trends Plant Sci. 2021. V. 26, № 9. P. 940-952.
- 116. Ling, A. P. K. Physiological Responses of Orthosiphon Stamineus Plantles to Gamma Irradiation / A. P. K. Ling, A. G. Lai, S. Hussein, A. R. Harun // Am-Eurasian J Sustain Agric. – 2008. – V. 2. – P. 135-149.
- 117. Lopez, R. Tree Shoot Bending Generates Hydraulic Pressure Pulses: A New Long-Distance Signal? / R. Lopez, E. Badel, S. Peraudeau, N. Leblanc-Fournier, F. Beaujard, J. L. Julien, H. Cochard, B. Moulia // J Exp Bot. 2014. V. 65, № 8. P. 1997-2008.
- 118. Lu, X. Radiation-Induced Changes in Gene Expression Involve Recruitment of Existing Messenger Rnas to and Away from Polysomes / X. Lu, L. de la Pena, C.

Barker, K. Camphausen, P. J. Tofilon // Cancer Res. – 2006. – V. 66, № 2. – P. 1052-1061.

- 119. Ludovici, G. M. Adaptation to Ionizing Radiation of Higher Plants: From Environmental Radioactivity to Chernobyl Disaster / G. M. Ludovici, S. Oliveira de Souza, A. Chierici, M. G. Cascone, F. d'Errico, A. Malizia // J Environ Radioact. – 2020. – V. 222. – P. 106375.
- 120. Macovei, A. Synergistic Exposure of Rice Seeds to Different Doses of Gamma-Ray and Salinity Stress Resulted in Increased Antioxidant Enzyme Activities and Gene-Specific Modulation of TC-NER Pathway / A. Macovei, B. Garg, S. Raikwar, A. Balestrazzi, D. Carbonera, A. Buttafava, J. F. Bremont, S. S. Gill, N. Tuteja // Biomed Res Int. – 2014. – V. 2014. – P. 676934.
- 121. Majumdar, A. Congruence between PM H(+)-ATPase and NADPH Oxidase During Root Growth: A Necessary Probability / A. Majumdar, R. K. Kar // Protoplasma. – 2018. – V. 255, № 4. – P. 1129-1137.
- 122. Manian, V. Detection of Genes in Arabidopsis thaliana L. Responding to DNA Damage from Radiation and Other Stressors in Spaceflight / V. Manian, J. Orozco-Sandoval, V. Diaz-Martinez // Genes (Basel). – 2021. – V. 12, № 6.
- 123. Marčiulionienė, D. Radiocesium Phytotoxicity to Single Cell and Higher Plants / D. Marčiulionienė, B. Lukšienė, D. Montvydiene, V. Sakalauskas, O. Sevriukova, R. Druteikiene, O. Jefanova, Z. Žukauskaitė // Impact of Cesium on Plants and the Environment / D. K. Gupta, C. Walther eds. Springer, Cham, 2017. P. 209-230.
- Marcu, D. Dose-Dependent Effects of Gamma Radiation on Lettuce (*Lactuca Sativa* Var. Capitata) Seedlings / D. Marcu, V. Cristea, L. Daraban // Int J Radiat Biol. 2013. V. 89, № 3. P. 219-223.
- 125. Marhavy, P. Single-Cell Damage Elicits Regional, Nematode-Restricting Ethylene Responses in Roots / P. Marhavy, A. Kurenda, S. Siddique, V. Denervaud Tendon, F. Zhou, J. Holbein, M. S. Hasan, F. M. Grundler, E. E. Farmer, N. Geldner // EMBO J. - 2019. – V. 38, № 10.

- 126. Maxwell, K. Chlorophyll Fluorescence a Practical Guide / K. Maxwell, G. N. Johnson // J Exp Bot. 2000. V. 51, № 345. P. 659-668.
- 127. McCabe, J. Photosynthesis and Photophosphorylation in Radiation-Stressed Soybean Plants and the Relation of These Processes to Photoassimilate Export / J. McCabe, B. Shelp, D. J. Ursino // Environ Exp Bot. – 1979. – V. 19. – P. 253-261.
- Mehta, R. A. Oxidative Stress Causes Rapid Membrane Translocation and in Vivo Degradation of Ribulose-1,5-Bisphosphate Carboxylase/Oxygenase / R. A. Mehta, T. W. Fawcett, D. Porath, A. K. Mattoo // J Biol Chem. 1992. V. 267, № 4. P. 2810-2816.
- 129. Miller, G. the Plant Nadph Oxidase RBOHD Mediates Rapid Systemic Signaling in Response to Diverse Stimuli / G. Miller, K. Schlauch, R. Tam, D. Cortes, M. A. Torres, V. Shulaev, J. L. Dangl, R. Mittler // Sci Signal. – 2009. – V. 2, № 84. – P. ra45.
- 130. Miret, J. A. Redox Signaling and Stress Tolerance in Plants: A Focus on Vitamin E / J. A. Miret, S. Munne-Bosch // Ann N Y Acad Sci. 2015. V. 1340. P. 29-38.
- 131. Mittler, R. Reactive Oxygen Species Signalling in Plant Stress Responses / R. Mittler,
 S. I. Zandalinas, Y. Fichman, F. Van Breusegem // Nat Rev Mol Cell Biol. 2022. –
 V. 23, № 10. P. 663-679.
- Moghaddam, S. S. Effects of Acute Gamma Irradiation on Physiological Traits and Flavonoid Accumulation of Centella Asiatica / S. S. Moghaddam, H. Jaafar, R. Ibrahim, A. Rahmat, M. A. Aziz, E. Philip // Molecules. 2011. V. 16, № 6. P. 4994-5007.
- Mohammed, A. H. M. A. Pre-Exposure to Gamma Rays Alleviates the Harmful Effect of Salinity on Cowpea Plants / A. H. M. A. Mohammed, H. I. Mohamed, L. M. Zaki, A. Mogazy // J Stress Physiol Biochem. – 2012. – V. 8. – P. 199-217.
- 134. Moon, Y. R. Thermal Dissipation of Excess Light in Arabidopsis Leaves is Inhibited after Gamma-Irradiation / Y. R. Moon, J.-H. Kim, M. Hee Lee, J.-S. Kim, B. Y. Chung // J Plant Biol. – 2008. – V. 51. – P. 52-57.

- 135. Mubarakshina, M. M. The Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in the Plastoquinone Pool of Chloroplast Thylakoid Membranes / M. M. Mubarakshina, B. N. Ivanov // Physiol Plant. 2010. V. 140, № 2. P. 103-110.
- 136. Mudrilov, M. Mechanisms of Specific Systemic Response in Wheat Plants under Different Locally Acting Heat Stimuli / M. Mudrilov, M. Ladeynova, E. Berezina, M. Grinberg, A. Brilkina, V. Sukhov, V. Vodeneev // J Plant Physiol. – 2021. – V. 258-259. – P. 153377.
- Muller, M. Hormonal Impact on Photosynthesis and Photoprotection in Plants / M.
 Muller, S. Munne-Bosch // Plant Physiol. 2021. V. 185, № 4. P. 1500-1522.
- 138. Myers, R. J. Live Whole-Plant Detection of Rapidly Accumulating Reactive Oxygen Species Following Applied Stress in *Arabidopsis thaliana* / R. J. Myers, Jr., S. I. Zandalinas, R. Mittler // Methods Mol Biol. – 2023. – V. 2642. – P. 387-401.
- Noctor, G. ROS-Related Redox Regulation and Signaling in Plants / G. Noctor, J. P. Reichheld, C. H. Foyer // Semin Cell Dev Biol. 2018. V. 80. P. 3-12.
- 140. Oelmuller R. Threat at One End of the Plant: What Travels to Inform the Other Parts?
 / R. Oelmuller // Int J Mol Sci. 2021. V. 22, № 6.
- 141. Ozolina, N. Redox Dependence of Transport Activity of Tonoplast Proton Pumps: Effects of Nitric Oxide Exposure During Ontogenesis and under Hypoosmotic and Hyperosmotic Stress / N. Ozolina, E. V. Kolesnikova, V. Nurminsky, I. S. Nesterkina, L. Dudareva, A. V. Tretyakova, R. K. Salyaev // Biochem. Moscow Suppl. Ser. A. – 2011. – V. 5. – P. 258-262.
- 142. Pavlovic, A. Electrical Signaling and Photosynthesis: Can They Co-Exist Together? /
 A. Pavlovic, S. Mancuso // Plant Signal Behav. 2011. V. 6, № 6. P. 840-842.
- 143. Pavlovic, A. Triggering a False Alarm: Wounding Mimics Prey Capture in the Carnivorous Venus Flytrap (*Dionaea muscipula*) / A. Pavlovic, J. Jaksova, O. Novak // New Phytol. 2017. V. 216, № 3. P. 927-938.

- 144. Pecherina, A. Salt-Induced Changes in Cytosolic pH and Photosynthesis in Tobacco and Potato Leaves / A. Pecherina, M. Grinberg, M. Ageyeva, D. Zanegina, E. Akinchits, A. Brilkina, V. Vodeneev // Int J Mol Sci. – 2022. – V. 24, № 1.
- 145. Pervan, M. Proteasome Structures Affected by Ionizing Radiation / M. Pervan, K. S. Iwamoto, W. H. McBride // Mol Cancer Res. 2005. V. 3, № 7. P. 381-390.
- 146. Popovic, B. M. Enhancement of Antioxidant and Isoflavones Concentration in Gamma Irradiated Soybean / B. M. Popovic, D. Stajner, A. Mandic, J. Canadanovic-Brunet, S. Kevresan // Scientific World Journal. – 2013. – V. 2013. – P. 383574.
- 147. Pozolotina, V. N. Temporal Variability of the Quality of *Taraxacum officinale* Seed Progeny from the East-Ural Radioactive Trace: Is There an Interaction between Low Level Radiation and Weather Conditions? / V. N. Pozolotina, E. V. Antonova // Int J Radiat Biol. – 2017. – V. 93, № 3. – P. 330-339.
- Pozolotina, V. N. Forests in the East Ural Radioactive Trace: Structure, Spatial Distribution, and the (90)Sr Inventory 63 Years after the Kyshtym Accident / V. N. Pozolotina, Y. V. Shalaumova, V. A. Lebedev, A. A. Grigor'ev, M. V. Modorov, L. N. Mikhaylovskaya, O. V. Tarasov // Environ Monit Assess. 2023. V. 195, № 6. P. 632.
- 149. Qi, W. ROS and ABA Signaling Are Involved in the Growth Stimulation Induced by Low-Dose Gamma Irradiation in Arabidopsis Seedling / W. Qi, L. Zhang, W. Feng, H. Xu, L. Wang, Z. Jiao // Appl Biochem Biotechnol. 2015. V. 175, № 3. P. 1490-1506.
- 150. Roy R. M. Transpiration and Stomatal Opening of X-Irradiated Broad Bean Seedlings
 / R. M. Roy // Radiation Botany. 1974. V. 14. P. 179-184.
- 151. Roychoudhury, A. Phytohormones, Plant Growth Regulators and Signaling Molecules: Cross-Talk and Stress Responses / A. Roychoudhury, T. Aftab // Plant Cell Rep. – 2021. – V. 40, № 8. – P. 1301-1303.

- 152. Sade, N. Bundle-Sheath Aquaporins Play a Role in Controlling Arabidopsis Leaf Hydraulic Conductivity / N. Sade, A. Shatil-Cohen, M. Moshelion // Plant Signal Behav. – 2015. – V. 10, №5. – P. e1017177.
- 153. Serna L. the Role of Brassinosteroids and Abscisic Acid in Stomatal Development /
 L. Serna // Plant Sci. 2014. V. 225. P. 95-101.
- 154. Sevriukova, O. Charophyte Electrogenesis as a Biomarker for Assessing the Risk from Low-Dose Ionizing Radiation to a Single Plant Cell / O. Sevriukova, A. Kanapeckaite, I. Lapeikaite, V. Kisnieriene, R. Ladygiene, V. Sakalauskas // J Environ Radioact. 2014. V. 136. P. 10-15.
- 155. Shabala, S. Root-to-Shoot Signalling: Integration of Diverse Molecules, Pathways and Functions / S. Shabala, R. G. White, M. A. Djordjevic, Y. L. Ruan, U. Mathesius // Funct Plant Biol. – 2016. – V. 43, № 2. – P. 87-104.
- 156. Sharapov, M. G. The Role of Peroxiredoxin 6 in Neutralization of X-Ray Mediated Oxidative Stress: Effects on Gene Expression, Preservation of Radiosensitive Tissues and Postradiation Survival of Animals / M. G. Sharapov, V. I. Novoselov, E. E. Fesenko, V. I. Bruskov, S. V. Gudkov // Free Radic Res. – 2017. – V. 51, № 2. – P. 148-166.
- 157. Shelp, B. Radiation-Induced Changes in the Export and Distribution of Photoassimilated Carbon in Soybean Plants / B. Shelp, J. McCabe, D. J. Ursino // Environ Exp Bot. – 1979. – V. 19. – P. 245-252.
- 158. Shesterikova, E. M. Differential Gene Expression in Chronically Irradiated Herbaceous Species from the Chernobyl Exclusion Zone / E. M. Shesterikova, V. S. Bondarenko, P. Y. Volkova // Int J Radiat Biol. – 2023. – V. 99, № 2. – P. 229-237.
- 159. Shikanai T. Regulatory Network of Proton Motive Force: Contribution of Cyclic Electron Transport around Photosystem I / T. Shikanai // Photosynth Res. 2016. V. 129, № 3. P. 253-260.

- 160. Sidler, C. Development-Dependent Expression of DNA Repair Genes and Epigenetic Regulators in Arabidopsis Plants Exposed to Ionizing Radiation / C. Sidler, D. Li, O. Kovalchuk, I. Kovalchuk // Radiat Res. – 2015. – V. 183, № 2. – P. 219-232.
- 161. Singh, B. Effect of Gamma Radiation on Wheat Plant Growth Due to Impact on Gas Exchange Characteristics and Mineral Nutrient Uptake and Utilization / B. Singh, S. Ahuja, R. Singhal, P. Venu Babu // J Radioanal Nucl Chem. – 2013. – V. 298.
- 162. Singh, P. Mirnas Play Critical Roles in Response to Abiotic Stress by Modulating Cross-Talk of Phytohormone Signaling / P. Singh, P. Dutta, D. Chakrabarty // Plant Cell Rep. – 2021. – V. 40, № 9. – P. 1617-1630.
- 163. Smirnoff, N. Hydrogen Peroxide Metabolism and Functions in Plants / N. Smirnoff,
 D. Arnaud // New Phytol. 2019. V. 221, № 3. P. 1197-1214.
- 164. Smith, J. T. Low Dose Ionizing Radiation Produces Too Few Reactive Oxygen Species to Directly Affect Antioxidant Concentrations in Cells / J. T. Smith, N. J. Willey, J. T. Hancock // Biol Lett. – 2012. – V. 8, № 4. – P. 594-597.
- 165. Stahlberg, R. Slow Wave Potentials in Cucumber Differ in Form and Growth Effect from Those in Pea Seedlings / R. Stahlberg, D. J. Cosgrove // Physiologia Plantarum. – 1997. – V. 101. – P. 379-388.
- 166. Stankovic, B. Both Action Potentials and Variation Potentials Induce Proteinase Inhibitor Gene Expression in Tomato / B. Stankovic, E. Davies // FEBS Lett. – 1996.
 – V. 390, № 3. – P. 275-279.
- 167. Stoeva, N. Physiological Response of Bean (Phaeseolus Vulgaris L.) to Gamma Irradiation Treatment. II. Water Exchange, Respiration and Peroxidase Activity / N. Stoeva, Z. Zlatev, Z. Bineva // J Environ Prot Ecol. – 2001. – V. 2. – P. 304-308.
- 168. Sukhov, V. Long-Distance Electrical Signals as a Link between the Local Action of Stressors and the Systemic Physiological Responses in Higher Plants / V. Sukhov, E. Sukhova, V. Vodeneev // Prog Biophys Mol Biol. – 2019. – V. 146. – P. 63-84.

- 169. Sukhov, V. Proton Cellular Influx as a Probable Mechanism of Variation Potential Influence on Photosynthesis in Pea / V. Sukhov, O. Sherstneva, L. Surova, L. Katicheva, V. Vodeneev // Plant Cell Environ. – 2014. – V. 37, № 11. – P. 2532-2541.
- 170. Surova, L. Variation Potential-Induced Photosynthetic and Respiratory Changes Increase ATP Content in Pea Leaves / L. Surova, O. Sherstneva, V. Vodeneev, L. Katicheva, M. Semina, V. Sukhov // J Plant Physiol. – 2016. – V. 202. – P. 57-64.
- 171. Suzuki, N. Temporal-Spatial Interaction between Reactive Oxygen Species and Abscisic Acid Regulates Rapid Systemic Acclimation in Plants / N. Suzuki, G. Miller, C. Salazar, H. A. Mondal, E. Shulaev, D. F. Cortes, J. L. Shuman, X. Luo, J. Shah, K. Schlauch, V. Shulaev, R. Mittler // Plant Cell. 2013. V. 25, № 9. P. 3553-3569.
- Szechynska-Hebda, M. Aboveground Plant-to-Plant Electrical Signaling Mediates Network Acquired Acclimation / M. Szechynska-Hebda, M. Lewandowska, D. Witon, Y. Fichman, R. Mittler, S. M. Karpinski // Plant Cell. – 2022. – V. 34, № 8. – P. 3047-3065.
- Taheri, S. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Enhancement with Acute Gamma Irradiation in *Curcuma alismatifolia* (Zingiberaceae) Leaves / S. Taheri, T. L. Abdullah, E. Karimi, E. Oskoueian, M. Ebrahimi // Int J Mol Sci. 2014. V. 15, № 7. P. 13077-13090.
- 174. Takizawa, K. the Thylakoid Proton Motive Force in Vivo. Quantitative, Non-Invasive Probes, Energetics, and Regulatory Consequences of Light-Induced Pmf / K. Takizawa, J. A. Cruz, A. Kanazawa, D. M. Kramer // Biochim Biophys Acta. 2007. V. 1767, № 10. P. 1233-1244.
- 175. Tan, Y. the Role of Reactive Oxygen Species in Plant Response to Radiation / Y. Tan,
 Y. Duan, Q. Chi, R. Wang, Y. Yin, D. Cui, S. Li, A. Wang, R. Ma, B. Li, Z. Jiao, H. Sun // Int J Mol Sci. 2023. V. 24, № 4.
- 176. Thiede, M. E. Effects of Gamma Radiation on Stem Diameter Growth, Carbon Gain and Biomass Partitioning in Helianthus Annuus / M. E. Thiede, S. O. Link, R. J. Fellows, P. A. Beedlow // Environ Exp Bot. – 1995. – V. 35, № 1. – P. 33-41.

- 177. Timofeev-Resovsky, N. V. On Radiostimulation of Plants / N. V. Timofeev-Resovsky,
 N. A. Poryadkova // Botan Zhur. 1956. V. 41. P. 1620-1623.
- 178. Tishkin, S. M. Ionizing Non-Fatal Whole-Body Irradiation Inhibits Ca²⁺-Dependent K⁺ Channels in Endothelial Cells of Rat Coronary Artery: Possible Contribution to Depression of Endothelium-Dependent Vascular Relaxation / S. M. Tishkin, V. V. Rekalov, I. V. Ivanova, R. S. MoreLand, A. I. Soloviev // Int J Radiat Biol. – 2007. – V. 83, № 3. – P. 161-169.
- 179. Torres-Ruiz, J. M. Role of Hydraulic and Chemical Signals in Leaves, Stems and Roots in the Stomatal Behaviour of Olive Trees under Water Stress and Recovery Conditions / J. M. Torres-Ruiz, A. Diaz-Espejo, A. Perez-Martin, V. Hernandez-Santana // Tree Physiol. – 2015. – V. 35, № 4. – P. 415-424.
- Trebacz, K. Electrical Signals in Long-Distance Communication in Plants / K. Trebacz, H. Dziubinska, E. Krol // Communication in Plants / F. Baluska, S. Mancuso, D. Volkmann eds. – Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 2006. – P. 277-290.
- 181. Trivigno, D. Regulation of Protein Translation Initiation in Response to Ionizing Radiation / D. Trivigno, L. Bornes, S. M. Huber, J. Rudner // Radiat Oncol. – 2013. – V. 8. – P. 35.
- 182. Tyree, M. T. Water-Storage Capacity Ofthuja, Tsuga Andacer Stems Measured by Dehydration Isotherms: the Contribution of Capillary Water and Cavitation / M. T. Tyree, S. Yang // Planta. – 1990. – V. 182, № 3. – P. 420-426.
- 183. Ursino D. J. Effects of Chronic Internal Beta-Radiation from Photoassimilated CO₂ on the Retention and Distribution of C in Young White Pine Plants / D. J. Ursino // Plant Physiol. – 1973. – V. 51, № 5. – P. 954-959.
- 184. Ursino, D. J. Changes in the Rates of Apparent Photosynthesis in 21% and 1% Oxygen and of Dark Respiration Following a Single Exposure of Three-Year-Old Pinus Strobus L. Plants to Gamma Radiation / D. J. Ursino, A. Moss, J. Stimac // Radiat Bot. - 1974. - V. 14. - P. 117-125.

- 185. Ursino, D. J. Radiation-Induced Changes in Rates of Photosynthetic CO₂ Uptake in Soybean Plants / D. J. Ursino, H. Schefski, J. McCabe // Environ Exp Bot. – 1977. – V. 17. – P. 27-34.
- 186. Van Hoeck, A. Lemna Minor Plants Chronically Exposed to Ionising Radiation: RNA-Seq Analysis Indicates a Dose Rate Dependent Shift from Acclimation to Survival Strategies / A. Van Hoeck, N. Horemans, R. Nauts, M. Van Hees, H. Vandenhove, R. Blust // Plant Sci. – 2017. – V. 257. – P. 84-95.
- 187. Vandeleur, R. K. Rapid Shoot-to-Root Signalling Regulates Root Hydraulic Conductance Via Aquaporins / R. K. Vandeleur, W. Sullivan, A. Athman, C. Jordans, M. Gilliham, B. N. Kaiser, S. D. Tyerman // Plant Cell Environ. 2014. V. 37, № 2. P. 520-538.
- 188. Vandenhove, H. Life-Cycle Chronic Gamma Exposure of Arabidopsis thaliana Induces Growth Effects but No Discernable Effects on Oxidative Stress Pathways / H. Vandenhove, N. Vanhoudt, A. Cuypers, M. van Hees, J. Wannijn, N. Horemans // Plant Physiol Biochem. – 2010. – V. 48, № 9. – P. 778-786.
- 189. Vanhoudt, N. Primary Stress Responses in Arabidopsis thaliana Exposed to Gamma Radiation / N. Vanhoudt, N. Horemans, J. Wannijn, R. Nauts, M. Van Hees, H. Vandenhove // J Environ Radioact. – 2014. – V. 129. – P. 1-6.
- 190. Vanhoudt, N. the Combined Effect of Uranium and Gamma Radiation on Biological Responses and Oxidative Stress Induced in *Arabidopsis thaliana* / N. Vanhoudt, H. Vandenhove, N. Horemans, J. Wannijn, M. Van Hees, J. Vangronsveld, A. Cuypers // J Environ Radioact. – 2010. – V. 101, № 11. – P. 923-930.
- 191. Vardhan, P. V. Gamma Irradiation of Medicinally Important Plants and the Enhancement of Secondary Metabolite Production / P. V. Vardhan, L. I. Shukla // Int J Radiat Biol. – 2017. – V. 93, № 9. – P. 967-979.
- 192. Vasilenko, A. Alteration in Lipid Peroxidation in Plant Cells after Accelerated Ion Irradiation / A. Vasilenko, S. Zhadko, P. G. Sidorenko // Biological Effects and Physics

of Solar and Galactic Cosmic Radiation: Part A / C. E. Swenberg, G. Horneck, E. G. Stassinopoulos eds. – Springer US, 1993. – P. 155-159.

- 193. Verma, V. Plant Hormone-Mediated Regulation of Stress Responses / V. Verma, P. Ravindran, P. P. Kumar // BMC Plant Biol. 2016. V. 16. P. 86.
- 194. Vian, A. Rapid and Systemic Accumulation of Chloroplast mRNA-Binding Protein Transcripts after Flame Stimulus in Tomato / A. Vian, C. Henry-Vian, E. Davies // Plant Physiol. – 1999. – V. 121, № 2. – P. 517-524.
- 195. Vitale, E. Light Spectral Composition Influences Structural and Eco-Physiological Traits of Solanum lycopersicum L. Cv. 'Microtom' in Response to High-Let Ionizing Radiation / E. Vitale, L. Vitale, G. Costanzo, V. Velikova, T. Tsonev, P. Simoniello, V. De Micco, C. Arena // Plants (Basel). – 2021. – V. 10, № 8.
- 196. Vitale, E. Light Quality Modulates Photosynthesis and Antioxidant Properties of *B. vulgaris* L. Plants from Seeds Irradiated with High-Energy Heavy Ions: Implications for Cultivation in Space / E. Vitale, L. G. Izzo, C. Amitrano, V. Velikova, T. Tsonev, P. Simoniello, V. De Micco, C. Arena // Plants (Basel). 2022. V. 11, № 14.
- 197. Vodeneev, V. Variation Potential in Higher Plants: Mechanisms of Generation and Propagation / V. Vodeneev, E. Akinchits, V. Sukhov // Plant Signal Behav. – 2015. – V. 10, № 9. – e1057365.
- 198. Vodeneev, V. Parameters of Electrical Signals and Photosynthetic Responses Induced by Them in Pea Seedlings Depend on the Nature of Stimulus / V. Vodeneev, M. Mudrilov, E. Akinchits, I. Balalaeva, V. Sukhov // Funct Plant Biol. – 2017. – 10.1071/FP16342.
- 199. Volkov, A. G. Morphing Structures and Signal Transduction in *Mimosa pudica* L. Induced by Localized Thermal Stress / A. G. Volkov, L. O'Neal, M. I. Volkova, V. S. Markin // J Plant Physiol. – 2013. – V. 170, № 15. – P. 1317-1327.
- 200. Volkov, A. G. Mimosa Pudica: Electrical and Mechanical Stimulation of Plant Movements / A. G. Volkov, J. C. Foster, T. A. Ashby, R. K. Walker, J. A. Johnson, V. S. Markin // Plant Cell Environ. – 2010. – V. 33, № 2. – P. 163-173.

- 201. Volkova, P. Y. Radiation Hormesis in Plants / P. Y. Volkova, E. V. Bondarenko, E. Kazakova // Curr Opin Toxicol. 2022. V. 30. P. 100334.
- 202. Vuralhan-Eckert, J. Effect of Simultaneously Induced Environmental Stimuli on Electrical Signalling and Gas Exchange in Maize Plants / J. Vuralhan-Eckert, S. Lautner, J. Fromm // J Plant Physiol. – 2018. – V. 223. – P. 32-36.
- 203. Wang, J. Ionizing Radiation: Effective Physical Agents for Economic Crop Seed Priming and the Underlying Physiological Mechanisms / J. Wang, Y. Zhang, L. Zhou, F. Yang, J. Li, Y. Du, R. Liu, W. Li, L. Yu // Int J Mol Sci. – 2022. – V. 23, № 23.
- 204. Wang, L. Role of Carbon Ion Beams Irradiation in Mitigating Cold Stress in Arabidopsis thaliana / L. Wang, R. Ma, Y. Yin, Z. Jiao // Ecotoxicol Environ Saf. – 2018. – V. 162. – P. 341-347.
- 205. Wang, T. A Pivotal Role of the Jasmonic Acid Signal Pathway in Mediating Radiation-Induced Bystander Effects in *Arabidopsis thaliana* / T. Wang, W. Xu, C. Deng, S. Xu, F. Li, Y. Wu, L. Wu, P. Bian // Mutat Res. – 2016. – V. 791-792. – P. 1-9.
- 206. Ward J. F. DNA Damage Produced by Ionizing Radiation in Mammalian Cells: Identities, Mechanisms of Formation, and Reparability / J. F. Ward // Prog Nucleic Acid Res Mol Biol. – 1988. – V. 35. – P. 95-125.
- 207. Waszczak, C. Reactive Oxygen Species in Plant Signaling / C. Waszczak, M. Carmody, J. Kangasjarvi // Annu Rev Plant Biol. 2018. V. 69. P. 209-236.
- 208. Wi, S. G. Ultrastructural Changes of Cell Organelles in Arabidopsis Stems after Gamma Irradation / S. G. Wi, B. Y. Chung, J.-H. Kim, M.-H. Baek, D. H. Yang, J.-W. Lee, J.-S. Kim // J Plant Biol. – 2005. – V. 48. – P. 195-200.
- 209. Xia, X. J. Interplay between Reactive Oxygen Species and Hormones in the Control of Plant Development and Stress Tolerance / X. J. Xia, Y. H. Zhou, K. Shi, J. Zhou, C. H. Foyer, J. Q. Yu // J Exp Bot. 2015. V. 66, № 10. P. 2839-2856.
- 210. Yudina, L. Influence of Burning-Induced Electrical Signals on Photosynthesis in Pea Can Be Modified by Soil Water Shortage / L. Yudina, E. Gromova, M. Grinberg, A. Popova, E. Sukhova, V. Sukhov // Plants (Basel). 2022. V. 11, № 4.

- 211. Zandalinas, S. I. Plant Adaptations to the Combination of Drought and High Temperatures / S. I. Zandalinas, R. Mittler, D. Balfagon, V. Arbona, A. Gomez-Cadenas // Physiol Plant. – 2018. – V. 162, № 1. – P. 2-12.
- Zandalinas, S. I. Systemic Signaling During Abiotic Stress Combination in Plants / S.
 I. Zandalinas, Y. Fichman, A. R. Devireddy, S. Sengupta, R. K. Azad, R. Mittler // Proc Natl Acad Sci U S A. – 2020. – V. 117, № 24. – P. 13810-13820.
- 213. Zebelo, S. A. Signal Transduction in Plant–Insect Interactions: From Membrane Potential Variations to Metabolomics / S. A. Zebelo, E. M. Maffei // Plant Electrophysiology / A. G. Volkov ed. – Berlin: Springer-Verlag, 2012. – P. 33-63.
- Zhang, J. Increased Abscisic Acid Levels in Transgenic Maize Overexpressing AtLOS5 Mediated Root Ion Fluxes and Leaf Water Status under Salt Stress / J. Zhang, H. Yu, Y. Zhang, Y. Wang, M. Li, J. Zhang, L. Duan, M. Zhang, Z. Li // J Exp Bot. 2016. V. 67, № 5. P. 1339-1355.
- 215. Zhirnov, V. V. the Effects of Ultra-Low Dose Beta-Radiation on the Physical Properties of Human Erythrocyte Membranes / V. V. Zhirnov, S. V. Khyzhnyak, V. M. Voitsitskiy // Int J Radiat Biol. – 2010. – V. 86, № 6. – P. 499-506.
- 216. Zimmermann, M. R. System Potentials, a Novel Electrical Long-Distance Apoplastic Signal in Plants, Induced by Wounding / M. R. Zimmermann, H. Maischak, A. Mithofer, W. Boland, H. H. Felle // Plant Physiol. – 2009. – V. 149, № 3. – P. 1593-1600.