

УДК 57.043

АНАЛИЗ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ

© 2024 г. П. А. Пирогова^а, Т. А. Здобнова^а, А. В. Иванова^а, М. А. Гринберг^а,
В. А. Воденеев^{а, *}

^аФедеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
“Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского”, Нижний Новгород, 603022 Россия

*e-mail: v.vodeneev@mail.ru

Поступила в редакцию 06.12.2023

После доработки 18.01.2024

Принята к публикации 19.01.2024

Влияние ионизирующего излучения (ИИ) на растения реализуется во многом за счет изменения статуса сигнальных систем и модификации стрессовых сигналов. Вариабельный потенциал (ВП) — один из типов электрических сигналов растений. ИИ способствует увеличению амплитуды ВП, однако механизмы такого влияния практически неизвестны. Возможный путь реализации возникающих при действии ИИ изменений — регуляция экспрессии генов. В настоящей работе исследовано изменение экспрессии генов участников генерации и распространения ВП у облученных растений. Эксперименты были выполнены на 14–15-дневных растениях пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.), выращенных в условиях хронического облучения (источник ⁹⁰Sr–⁹⁰Y) с мощностью дозы 31.3 мГр/ч. Максимальная накопленная доза составила около 11.3 мГр. У облученных растений показано отсутствие изменений экспрессии генов кальциевого (*TPC1*), анионных (*ALMT1* и *CLC1*), калиевого (*AKT1*) каналов, H⁺-АТФ-азы (*HAI*) и NADPH-оксидазы (*RBOHs*). Выявлено уменьшение экспрессии гена калиевых каналов *SKOR*. Блокатор калиевых каналов — хлорид тетраэтиламмония вызывал увеличение амплитуды реакции у контрольных растений, сопоставимое с увеличением амплитуды у облученной группы. Полученный результат свидетельствует, что одним из путей влияния ИИ на электрические сигналы растений является угнетение экспрессии калиевого канала.

Ключевые слова: ионизирующее излучение, дистанционные электрические сигналы, вариабельный потенциал, калиевые каналы, *SKOR*, *Triticum aestivum*

DOI: 10.31857/S0233475524030039, **EDN:** csqqth

ВВЕДЕНИЕ

Исследование влияния ионизирующего излучения (ИИ) на живые организмы, в частности растения, является актуальной задачей в наши дни, поскольку расширяются сферы его применения. Растения подвергаются воздействию ИИ в различных случаях, например при произрастании на территориях с повышенным радиационным фоном, решении селекционных задач или выращивании в оранжереях во время космических миссий [1–4]. Особый интерес вызывают эффекты, оказываемые на растения облучением в малых дозах в хроническом режиме, поскольку такие условия воздействия наиболее приближены к встречающимся в природной среде с повышенным уровнем

ИИ. При данном типе облучения биологические эффекты описываются как нелинейные, зачастую приводящие к стимуляции физиологических процессов [5–7]. ИИ, в том числе в малых дозах, оказывает влияние на важнейшие физиологические процессы (фотосинтез, транспирация, биосинтез соединений). Такие эффекты отчасти могут объясняться влиянием ИИ на уровень экспрессии генов [6, 7]. Известно, что уже малые дозы ИИ могут приводить к существенным изменениям в профилях экспрессии различных генов [8, 9]. Характерной особенностью малых доз ИИ является также модуляция эффекта от действующих на фоне облучения дополнительных неблагоприятных факторов, таких как повышенная температура, засуха, засоление, тяжелые металлы, микрогравитация

[10–14]. Облучение может способствовать как усилению, так и ослаблению вызванных дополнительными стрессорами негативных эффектов, оцениваемых по морфометрическим и физиологическим показателям. Одним из потенциальных механизмов формирования подобных измененных ответов может являться модификация стрессовых сигналов растений, вызванных неблагоприятными факторами, под влиянием малых доз ИИ.

Дистанционные электрические сигналы — один из типов стрессовых сигналов растений — имеют большое значение для функционирования растения в изменяющихся условиях окружающей среды. Электрические сигналы способны передавать информацию о действии стрессора и приводить к формированию системного ответа. Такой ответ представляет собой скоординированное изменение активности физиологических процессов, лежащие в основе адаптации [15–18]. Ранее было показано, что ИИ способно влиять на дистанционные электрические сигналы растений: как потенциал действия [19], так и переменный потенциал (ВП) [14]. Механизмы такого влияния пока остаются неясными, что может быть связано с тем, что молекулярные механизмы генерации и распространения электрических сигналов у растений изучены недостаточно. Известно, что формирование ВП связано с возникновением потоков кальция, калия и анионов и изменением активности H^+ -АТФ-азы плазматических мембран [20]. Несмотря на то, что на сегодняшний день однозначно не идентифицирована молекулярная природа систем ионного транспорта, вносящих вклад в формирование ВП, круг наиболее вероятных кандидатов обозначен [21]. Так, в инициации ВП, по-видимому, принимают участие кальций-проницаемые ионные каналы: лиганд-зависимые (GLR, CNGC), механочувствительные каналы (MCA, MSL) и аннексин (ANN1) [22–26]. Входящий поток Ca^{2+} индуцирует выходящий поток анионов, связанный с активацией анионных каналов, относящихся, вероятно, к семействам CLC, SLAC и ALMT [27, 28], и инактивацию H^+ -АТФ-азы. В формировании фазы реполяризации ВП предполагают участие таких K^+ -каналов, как SKOR и GORK [27, 29]. Распространение ВП связывают с совместным движением волн Ca^{2+} и активных форм кислорода (АФК), возникающих при участии АФК-зависимых Ca^{2+} -каналов и Ca^{2+} -активируемой NADPH-оксидазы, продуцирующей АФК [24, 30].

К настоящему времени показано, что ИИ способно влиять на отдельные системы генерации и распространения ВП. Такое влияние может

реализовываться через изменение экспрессии генов (генетическая регуляция) и, предположительно, через изменение активности белков (физиологическая регуляция) за счет генерирующихся в результате облучения АФК. Первый путь показан, в частности, для анионных каналов [9] и NADPH-оксидазы [31–33], второй путь — для H^+ -АТФ-азы [14] и некоторых ионных каналов [34]. Однако на сегодняшний день оценка влияния ИИ выполнена в отношении ограниченного круга участников генерации и распространения электрических сигналов.

Цель работы заключается в анализе механизмов влияния ИИ на ВП растений, в частности, в определении вызванных хроническим облучением изменений экспрессии генов белков, участвующих в генерации и распространении ВП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выращивание растений и условия облучения.

Объект исследования — 14–15-дневные растения пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) сорта “Дарья”. Семена проращивали в течение 3 дней в дистиллированной воде, после чего саженцы пересаживали в горшки с песком. Растения выращивали при температуре 24°C под люминесцентными лампами белого света и флуора в условиях 16-часового светового периода. Экспериментальную группу облучали с помощью источника ^{90}Sr - ^{90}Y активностью 0.1 МБк и мощностью дозы 31.3 мГр/ч. Максимальная накопленная доза составляла около 11.3 мГр.

Измерение параметров переменного потенциала.

Электрическую активность регистрировали экстраклеточно с помощью $Ag^+/AgCl$ -макроэлектродов ЭВЛ-1М3 (Гомельский приборный завод, Беларусь), расположенных на втором листе целого растения и на срезанном втором листе длиной 15 см. Измерительный электрод контактировал с листом на расстоянии 3 см от зоны теплового воздействия посредством нити, смоченной стандартным раствором (0.1 мМ NaCl, 1 мМ KCl, 0.5 мМ $CaCl_2$). Электрод сравнения располагался во влажном песке (в случае целых растений) или в емкости, в которую был погружен срезанный край листа. Экстраклеточный потенциал записывали с помощью высокоомного усилителя pH-метра/ионометра мультитеста ИПЛ-113 (Семико, Россия), затем обрабатывали в программе param2.

ВП регистрировали в ответ на нагрев до 65°C кончика листа в заполненной водой ячейке в течение 7 мин. Адаптация растения перед регистрацией

реакции составляла 1 ч. После возникновения ВП запись потенциалов проводили в течение 25 мин.

Ингибиторный анализ. Вклад K^+ -каналов в развитие ВП у контрольных и облученных растений оценивали с помощью ингибиторного анализа. В качестве ингибитора использовали 1 мМ хлорид тетраэтиламмония (ТЭА), блокирующий работу K^+ -каналов. Срезанный второй лист пшеницы длиной 15 см помещали в сосуд с ТЭА и инкубировали 5 мин в вакуумной установке при давлении 0.2 атм. Для контроля срезанный лист помещали в сосуд со стандартным раствором и проводили инкубацию в аналогичных условиях. Временной период между загрузкой ингибитора и регистрацией ВП составлял 60 мин.

Анализ экспрессии генов. Изменение экспрессии генов потенциальных мишеней ИИ, предположительно участвующих в генерации и распространении ВП (табл. 1), оценивали методом ПЦР в реальном времени. Гены интереса выбирали на основании данных литературы.

Для анализа использовали срезанные и замороженные в жидком азоте вторые интактные листья растений пшеницы. Суммарную РНК выделяли из 100 мг замороженного образца с помощью реагента ExtractRNA (BCO32, Евроген, Россия) согласно инструкции производителя. Качество выделенной РНК проверяли с помощью спектрофотометра для микрообъемов NanoVue (GE, США) и электрофореза в 1.2% агарозном геле (20 мин, 7 В/см). 1 мкг суммарной РНК обрабатывали ДНКазой DNase I, RNase-free (Thermo Scientific, США) и проводили синтез кДНК с использованием набора реактивов MMLV RT kit (SKO21, Евроген, Россия) и oligo(dT) праймера (SB001, Евроген, Россия) согласно инструкциям производителя.

ПЦР в реальном времени проводили с использованием специфических праймеров (табл. 1) и набора qPCRmix-HS SYBR+HighROX (Евроген, Россия) согласно рекомендациям производителя. В реакционную смесь добавляли по 1 мкл кДНК (4 технические повторности каждой реакционной смеси и отрицательного контроля). Реакцию проводили в детектирующем амплификаторе The Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, США). Программа ПЦР: 1) горячий старт при 95°C, 10 мин; 2) денатурация ДНК при 95°C, 15 с; 3) отжиг праймеров, синтез ДНК и детекция флуоресцентного сигнала при 60°C, 1 мин. Этапы 2–3 повторяли 40 раз. Значения порогового цикла C_t определяли с помощью программного обеспечения 7500 Software

(Applied Biosystems, США). Полученные результаты анализировали по методике $\Delta\Delta C_t$ [35]. Изменение относительной экспрессии (RQ) определяли по формуле: $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ [35]. В качестве референсных генов использовали β -актин (*ACTB*) и гомолог белка слияния вакуолей (*MON1*) [10, 33].

Статистическая обработка данных. Эксперименты включали 7–16 биологических повторностей. Статистическую обработку результатов проводили с помощью MS Excel (Microsoft Corporation, США). Для анализа использовали средние значения величин с ошибкой среднего. Статистически значимые различия определяли с помощью t-теста Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние ИИ на параметры ВП. Локальный нагрев кончика листа вызывает генерацию и распространение ВП у растений пшеницы (рис. 1). Хроническое облучение растений приводит к возрастанию амплитуды ВП: в контроле она составляет 68.9 ± 3.9 мВ, в облученной группе – 83.1 ± 1.9 мВ (рис. 1). Для дальнейшего анализа механизмов наблюдаемого эффекта эксперименты были дополнительно проведены на срезанных листьях. У облученных растений на срезанных листьях также наблюдается увеличение амплитуды ВП: в контроле – 21.9 ± 2.6 мВ, в облученной группе – 31.8 ± 3.8 мВ (рис. 1).

Влияние ИИ на экспрессию генов участников генерации и распространения ВП. По результатам ПЦР в реальном времени у облученных растений определили относительный уровень экспрессии генов белков, участвующих в генерации и распространении ВП (рис. 2). ИИ оказывает действие на экспрессию генов участников генерации ВП. Показано, что уровень экспрессии гена калиевого канала SKOR у облученных растений был статистически значимо ниже. На экспрессию гена двупорового кальциевого канала (*TPC1*), анионных каналов (*ALMT1* и *CLCI*), калиевого канала входящего направления (*AKT1*), H^+ -АТФ-азы плазматической мембраны (*HAI*) и семейства NADPH-оксидаз ИИ не влияло.

Влияние ИИ на вклад калиевых каналов в развитие ВП. Для оценки вклада K^+ -каналов в развитие ВП под действием ИИ проведены электрофизиологические измерения при помощи ингибиторного анализа с ТЭА. ТЭА вызывает возрастание амплитуды ВП у контрольных растений (рис. 3). Амплитуда ВП контрольных растений составляет 21.9 ± 2.6 мВ, при действии ингибитора – 31.9 ± 3.4 мВ. ТЭА статистически значимо

Таблица 1. Праймеры исследуемых генов для ПЦР в реальном времени

Белок	Ген	Код GenBank	Длина продукта, п.о.	Прямой (F) и обратный (R) праймеры (5'–3')
Н ⁺ -АТФ-аза плазматической мембраны	<i>HAI</i>	AY543630	142	F: TTGGTCTGTTGCCCCCTGTTT
				R: ATCCCAAGCCTCCTACCAGT
Al-чувствительный транспортер малата 1	<i>ALMT1</i>	AB081803	124	F: TGCAGCCAACCCTGAGCTAT
				R: CACTGGAGACGGCACAGTCA
Хлорный анионный канал 1	<i>CLC1</i>	HM998551	146	F: ACACAATTTGCACCAGCAGC
				R: GCCAATCCACCTCCAAGTGA
K ⁺ -канал SKOR	<i>SKOR</i>	XM_044569353	134	F: TGGCAACTGTTGGCTATGGT
				R: GCCTTTGACGATAAGCGCAG
K ⁺ -канал входящего направления АКТ1	<i>AKT1</i>	AF207745	139	F: CATCATCTCGCCCTACGACC
				R: ATTATCCGTCGCAGCTAGGC
Двупоровый Ca ²⁺ -канал 1	<i>TPC1</i>	AY114121	144	F: CGGGAGGGCAATGAGTTTCT
				R: TCCCTTTGATCGTAAGCCTGT
NADPH-оксидаза	<i>RBOHs*</i>	—	139	F: CCGAGACGCTCAAGCTCAA
				R: CGGCGATCACCTTGTGGA
Гомолог белка слияния вакуолей MON1	<i>MON1*</i>	—	117	F: TTCTAGGTGGCACAGATGCG
				R: CAGCCTGTCTTGTGTGCTTGG
β-Актин	<i>ACTB</i>	AB181991	135	F: GGAGAAGCTCGCTTACGTG
				R: GGGCACCTGAACCTTTCTGA

* Для генов, последовательности которых для *T. aestivum* неизвестны, праймеры подбирали на основании гомологичной последовательности, полученной путем множественного выравнивания известных последовательностей этого гена других представителей злаковых (Gramineae, taxid: 4479).

не изменяет амплитуду реакции у растений из облученной группы (рис. 3). Амплитуда ВП облученных растений составляет 31.8 ± 3.8 мВ, при действии ТЭА — 36.3 ± 3.3 мВ. Таким образом, блокировка K⁺-каналов ТЭА у контрольных растений приводит к росту амплитуды ВП на 46%, что соответствует подобному увеличению у облученных растений. Дополнительного статистически значимого прироста амплитуды у облученных растений не происходит.

ОБСУЖДЕНИЕ

У растений пшеницы, выращенных в условиях хронического облучения, обнаружено увеличение амплитуды ВП (рис. 1), что соответствует полученным ранее результатам [14]. Наблюдаемый эффект может объясняться изменением количества и активности участвующих в генерации и распространении ВП систем. Распространение ВП связывают

с совместным движением волн Ca²⁺ и АФК за счет АФК-зависимых Ca²⁺-каналов и Ca²⁺-активируемой NADPH-оксидазы [24, 30]. Вход Ca²⁺ в клетку индуцирует изменение мембранного потенциала с последующей активацией анионных и K⁺-каналов, а также инактивацией Н⁺-АТФ-азы плазматических мембран. Известно, что облучение изменяет проницаемость мембраны для отдельных ионов за счет влияния на ионные каналы [34]. Эффект ИИ на ВП может быть обусловлен влиянием на системы, участвующие в генерации и распространении ВП, в частности, вследствие изменения уровня экспрессии кодирующих их генов.

У облученных растений показано отсутствие изменений экспрессии генов кальциевого (*TPC1*), анионных (*ALMT1* и *CLC1*), калиевого (*AKT1*) каналов, Н⁺-АТФ-азы (*HAI*) и NADPH-оксидазы (*RBOHs*) (рис. 2). Из литературных источников известно, что ИИ может вызывать изменение экспрессии генов других участников генерации

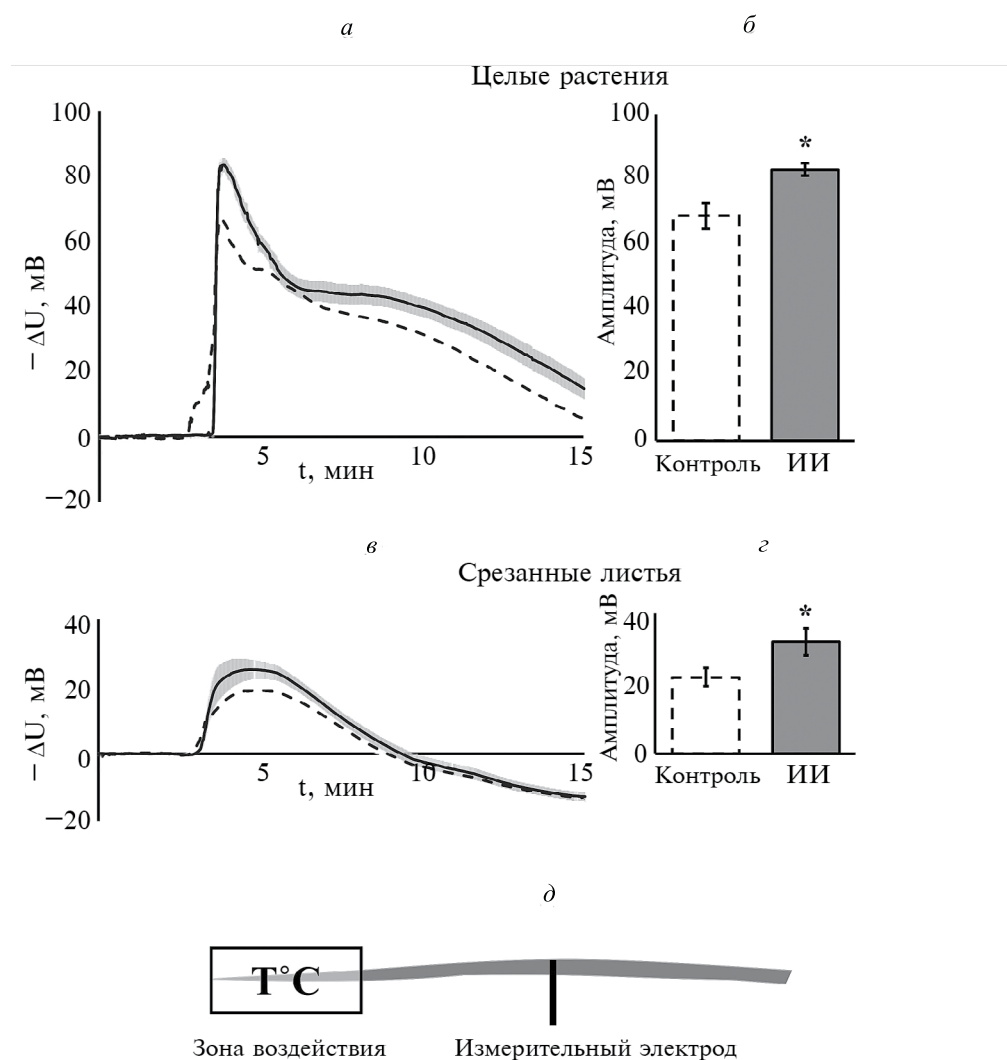


Рис. 1. Влияние ИИ на параметры ВП. а и в – Усредненные записи ВП у контрольных и облученных растений на целых растениях и отрезанных листьях соответственно; б и г – амплитуда ВП у контрольных и облученных растений на целых растениях и отрезанных листьях соответственно; д – схема эксперимента: расстояние между зоной воздействия и измерительным электродом 3 см; $n = 8-16$; * $p < 0.05$.

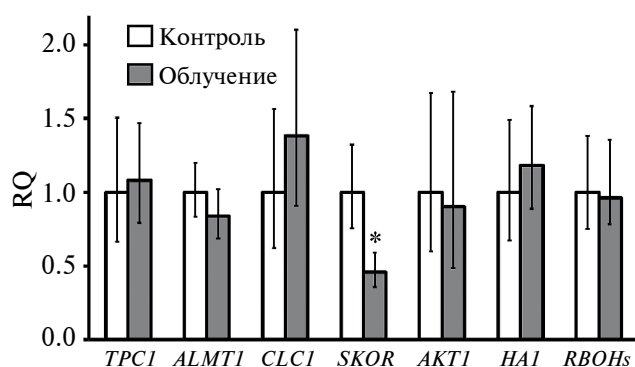


Рис. 2. Влияние ИИ на относительную экспрессию (RQ) генов белков, участвующих в генерации и распространении ВП; $n = 7$; * $p < 0.05$.

и распространения ВП, включая анионный канал SLAC1 [9] и NADPH-оксидазу [10, 31–33, 36]. Отсутствие влияния ИИ на эти гены в нашей работе может объясняться отличающимися объектами исследования и условиями облучения как в отношении типа ИИ, так и дозы облучения. Изменение экспрессии гена при хроническом облучении обнаружено только для K^+ -канала SKOR (рис. 2). Наблюдаемое уменьшение экспрессии гена одного из основных функциональных участников электрогенеза – K^+ -канала – может объяснять увеличение амплитуды реакции (рис. 1) за счет снижения степени перекрытия анионного потока, отвечающего за развитие деполяризации, и калиевого потока, вовлеченного в развитие реполяризации.

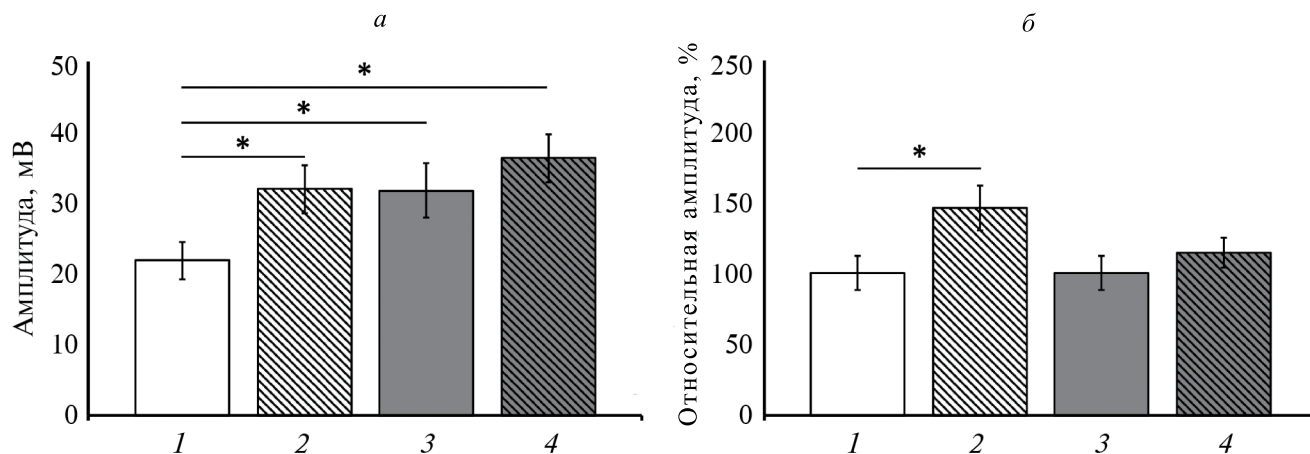


Рис. 3. Влияние блокатора калиевых каналов (ТЭА, 1 мМ) на амплитуду ВП у контрольных и облученных растений пшеницы. *а* – Амплитуда ВП. *б* – Относительная амплитуда ВП; за 100% приняты значения амплитуды ВП в отсутствие ТЭА для контрольных и облученных растений. 1 – Контроль, 2 – контроль + ТЭА, 3 – ИИ, 4 – ИИ + ТЭА; $n = 16$; * $p < 0.05$.

При модификации экспрессии большинства генов ключевыми участниками сигнального каскада, как правило, выступают транскрипционные факторы. При действии облучения в регуляции экспрессии генов ключевую роль играют транскрипционные факторы из семейств WRKY, MYB, HSF, ZAT [31, 37, 38], предположительно, за счет АФК, генерирующихся в ходе облучения [6]. Роль возможного претендента регуляции транскрипции K^+ -канала SKOR может выполнять транскрипционный фактор из семейства WRKY [39].

Выполненный ингибиторный анализ подтвердил участие K^+ -каналов в формировании вызванных ИИ изменений параметров ВП. K^+ -каналы играют важную роль на фазе реполяризации, однако выходящий поток K^+ начинается в фазу деполяризации, поэтому угнетение потока K^+ может привести к возрастанию амплитуды ВП. В эксперименте показано, что блокирование K^+ -каналов вызывает сходное с действием ИИ возрастание амплитуды ВП (рис. 3). Дополнительного вызванного блокатором возрастания амплитуды ВП у облученных растений не происходит (рис. 3).

Стоит отметить, что для K^+ -каналов, вносящих вклад в генерацию ВП, наряду с изменением экспрессии генов при облучении (рис. 2), возможна физиологическая регуляция активности другими факторами: АФК и изменением pH. Для каналов SKOR и GORK показана модуляция активности молекулами АФК [40, 41], которые генерируются в ходе облучения. Закисление внутренней и наружной среды в физиологическом диапазоне pH увеличивает количество K^+ -каналов, не доступных для активации [42]. Ранее в аналогичных условиях

облучения было показано увеличение активности одного из ключевых ферментов pH-гомеостаза – H^+ -АТФ-азы [14, 43], выкачивающей протоны из цитоплазмы в апопласт [44]. Повышенная активность H^+ -АТФ-азы также может оказывать влияние на калиевый ток и параметры электрических сигналов в целом за счет сдвигов электрохимических градиентов ионов на цитоплазматической мембране.

Полученные результаты и имеющиеся данные литературы позволяют предположить схему влияния ИИ на амплитуду электрических сигналов (рис. 4). К системам, участвующим в генерации и распространении электрических сигналов, относятся: системы продукции АФК (NADPH-оксидазы), Ca^{2+} -каналы, анионные каналы, K^+ -каналы и H^+ -АТФ-азу. Реализация эффекта ИИ возможна за счет изменения экспрессии генов (генетическая регуляция) и, предположительно, активности готовых белков (физиологическая регуляция). Посредником в реализации такого влияния в большинстве случаев выступают АФК, генерирующиеся под действием ИИ. Регуляция экспрессии генов осуществляется при участии транскрипционных факторов, активность которых при влиянии ИИ регулируется преимущественно через АФК. Вызванное облучением изменение экспрессии генов имеет место только для K^+ -канала выходящего направления SKOR (рис. 2). Понижение уровня экспрессии SKOR вызывает, вероятно, угнетение выходящего потока ионов K^+ . Это ведет к увеличению амплитуды ВП вследствие перекрытия деполяризующего потока анионов и реполяризующего потока K^+ . Наряду с генетической регуляцией имеет место физиологическая регуляция.

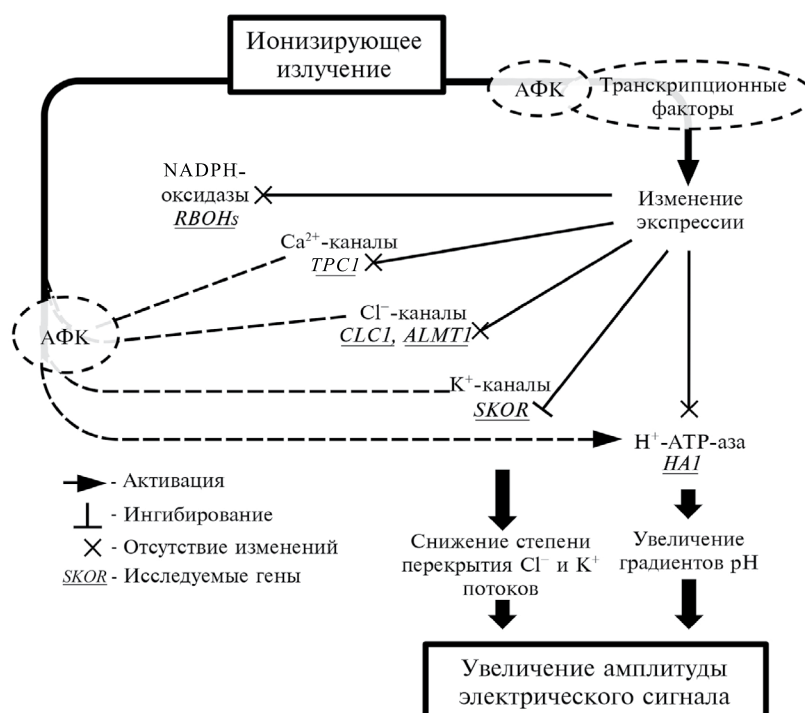


Рис. 4. Гипотетическая схема путей влияния ИИ на электрические сигналы. Схема основана на данных литературы (обозначены пунктирными линиями, ссылки приводятся в тексте раздела “Обсуждение”) и результатах, полученных в настоящей работе (обозначены сплошными линиями).

В предыдущих работах было продемонстрировано усиление активности H^{+} -АТФ-азы у облученных растений [14], в то же время изменения экспрессии гена H^{+} -АТФ-азы не было показано (рис. 2), что указывает на регуляцию на уровне готовых ферментов. Также под действием ИИ может происходить изменение проницаемости мембраны для ионов Ca^{2+} , Cl^{-} , K^{+} за счет влияния на ионные каналы [19, 34, 45, 46]. Таким образом, наиболее вероятным механизмом возрастания амплитуды ВП под действием ИИ выступает увеличение активности H^{+} -АТФ-азы и снижение уровня экспрессии гена K^{+} -канала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе получены результаты о роли калиевых каналов в реализации влияния ИИ на ВП, дополняющие понимание механизмов, лежащих в основе действия ИИ на стрессовые сигналы растений. Показано уменьшение уровня экспрессии гена калиевого канала *SKOR* и участие калиевых каналов в вызванном ИИ изменении амплитуды ВП. Мы предполагаем, что ключевую роль в механизме модификации ВП при облучении играют K^{+} -каналы наряду с системой регуляции рН. Полученные

данные позволяют расширить понимание механизмов работы стрессовых сигналов растений в условиях действия малых доз и хронического облучения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Источники финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-24-00340.

Соответствие принципам этики. Настоящая статья не содержит описания каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mousseau T.A., Møller A.P. 2020. Plants in the light of ionizing radiation: What have we learned from Chernobyl, Fukushima, and other “hot” places? *Front. Plant Sci.* **11**, 552.
2. Wang J., Zhang Y., Zhou L., Yang F., Li J., Du Y., Liu R., Li W., Yu L. 2022. Ionizing radiation: Effective physical agents for economic crop seed priming and the underlying physiological mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* **23** (23), 15212.

3. Duarte G.T., Volkova P.Y., Perez F., Horemans N. 2023. Chronic ionizing radiation of plants: An evolutionary factor from direct damage to non-target effects. *Plants*. **12** (5), 1178.
4. Grinberg M.A., Vodeneev V.A., Il'in N.V., Mareev E.A. 2023. Laboratory simulation of photosynthesis in a wide range of electromagnetic and radiation environment parameters. *Astron. Rep.* **67**, 71–77.
5. Kovalchuk I., Molinier J., Yao Y., Arkhipov A., Kovalchuk O. 2007. Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation. *Mutat. Res.* **624** (1–2), 101–113.
6. Gudkov S.V., Grinberg M.A., Sukhov V., Vodeneev V. 2019. Effect of ionizing radiation on physiological and molecular processes in plants. *J. Environ. Radioact.* **202**, 8–24.
7. Volkova P., Bondarenko E., Kazakova E. 2022. Radiation hormesis in plants. *Curr. Opin. Toxicol.* **30**, 100334.
8. Hayashi G., Shibato J., Imanaka T., Cho K., Kubo A., Kikuchi S., Satoh K., Kimura S., Ozawa S., Fukutani S., Endo S., Ichikawa K., Agrawal G.K., Shioda S., Fukumoto M., Rakwal R. 2014. Unraveling low-level gamma radiation-responsive changes in expression of early and late genes in leaves of rice seedlings at Iitate Village, Fukushima. *J. Hered.* **105** (5), 723–738.
9. Duarte G.T., Volkova P.Y., Geras'kin S.A. 2019. The response profile to chronic radiation exposure based on the transcriptome analysis of Scots pine from Chernobyl affected zone. *Environ. Pollut.* **250**, 618–626.
10. Vanhoudt N., Vandenhove H., Horemans N., Wannijn J., Hees M., Vangronsveld J., Cuypers A. 2010. The combined effect of uranium and gamma radiation on biological responses and oxidative stress induced in *Arabidopsis thaliana*. *J. Environ. Radioact.* **101** (11), 923–930.
11. Alikamanoglu S., Yalcili O., Sen A. 2011. Effect of gamma radiation on growth factors, biochemical parameters, and accumulation of trace elements in soybean plants (*Glycine max* L. Merrill). *Biol. Trace Elem. Res.* **141** (1–3), 283–293.
12. Macovei A., Garg B., Raikwar S., Balestrazzi A., Carbonera D., Buttafava A., Tuteja N. 2014. Synergistic exposure of rice seeds to different doses of gamma-ray and salinity stress resulted in increased antioxidant enzyme activities and genespecific modulation of TC-NER pathway. *Biomed. Res. Int.* **2014**, 676934.
13. Deng C., Wang, T., Wu J., Xu A., Li H., Liu M., Bian P. 2017. Modulation of modeled microgravity on radiation-induced adaptive response of root growth in *Arabidopsis thaliana*. *Mutat. Res.* **796**, 20–28.
14. Grinberg M., Gudkov S., Balalaeva I., Gromova E., Sinitsyna Y., Sukhov V., Vodeneev V. 2021. Effect of chronic β -radiation on long-distance electrical signals in wheat and their role in adaptation to heat stress. *Environ. Exp. Bot.* **184**, 104378.
15. Zandalinas S.I., Mittler R., Balfagón D., Arbona V., Gómez-Cadenas A. 2018. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiol. Plant.* **162** (1), 2–12.
16. Sukhov V., Sukhova E., Vodeneev V. 2019. Long-distance electrical signals as a link between the local action of stressors and the systemic physiological responses in higher plants. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **146**, 63–84.
17. Johns S., Hagihara T., Toyota M., Gilroy S. 2021. The fast and the furious: Rapid long-range signaling in plants. *Plant Physiol.* **185** (3), 694–706.
18. Ladeynova M., Kuznetsova D., Mudrilov M., Vodeneev V. 2023. Integration of electrical signals and phytohormones in the control of systemic response. *Int. J. Mol. Sci.* **24** (1), 847.
19. Esch H., Miltenburgett H., Hug O. 1964. The influence of electrical potentials on algal cells by X-rays. *Biophys. J.* **1**, 380–388.
20. Vodeneev V., Akinchits E., Sukhov V. 2015. Variation potential in higher plants: Mechanisms of generation and propagation. *Plant Signal Behav.* **10** (9), e1057365.
21. Mudrilov M.A., Ladeynova M.M., Kuznetsova D.V., Vodeneev V.A. 2023. Ion channels in electrical signaling in higher plants. *Biochem. Moscow.* **88**, 1467–1487.
22. Mousavi S.A., Chauvin A., Pascaud F., Kellenberger S., Farmer E.E. 2013. Glutamate receptor-like genes mediate leaf-to-leaf wound signaling. *Nature.* **500** (7463), 422–426.
23. Mangano S., Juarez S.P., Estevez J.M. 2016. ROS regulation of polar growth in plant cells. *Plant Physiol.* **171** (3), 1593–1605.
24. Demidchik V. 2018. ROS-activated ion channels in plants: Biophysical characteristics, physiological functions and molecular nature. *Int. J. Mol. Sci.* **19** (4), 1263.
25. Meena M.K., Prajapati R., Krishna D., Divakaran K., Pandey Y., Reichelt M., Mathew M.K., Boland W., Mithöfer A., Vadassery J. 2019. The Ca^{2+} channel CNGC19 regulates arabidopsis defense against spodoptera herbivory. *Plant Cell.* **31** (7), 153–1562.
26. Moe-Lange J., Gappel N.M., Machado M., Wudick M.M., Sies C., Schott-Verdugo S.N., Bonus M., Mishra S., Hartwig T., Bezruczyk M., Basu D., Farmer E.E., Gohlke H., Malkovskiy A., Haswell E.S., Lercher M.J., Ehrhardt D.W., Frommer W.B., Kleist T.J. 2021. Interdependence of a mechanosensitive anion channel and glutamate receptors in distal wound signaling. *Sci. Adv.* **7** (37), eabg4298.
27. Hedrich R. 2012. Ion channels in plants. *Physiol. Rev.* **92** (4), 1777–1811.
28. Saito S., Uozumi N. 2019. Guard cell membrane anion transport systems and their regulatory components: an elaborate mechanism controlling stress-induced stomatal closure. *Plants.* **8** (1), 9.
29. Cuin T.A., Dreyer I., Michard E. 2018. The role of potassium channels in *Arabidopsis thaliana* long distance electrical signalling: AKT2 modulates tissue

- excitability while GORK shapes action potentials. *Int. J. Mol. Sci.* **19** (4), 926.
30. Choi W.G., Miller G., Wallace I., Harper J., Mittler R., Gilroy S. 2017. Orchestrating rapid long-distance signaling in plants with Ca^{2+} , ROS and electrical signals. *Plant J.* **90** (4), 698–707.
 31. Kim D.S., Kim J.B., Goh E.I., Kim W.I., Kim S.H., Seob Y.W., Jang C.S., Kang S.Y. 2011. Antioxidant response of *Arabidopsis* plants to gamma irradiation: Genome-wide expression profiling of the ROS scavenging and signal transduction pathways. *J. Plant Physiol.* **168** (16), 1960–1971.
 32. Qi W., Zhang L., Feng W., Xu H., Wang L., Jiao Z. 2015. ROS and ABA signaling are involved in the growth stimulation induced by low-dose gamma irradiation in *Arabidopsis* seedling. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **175** (3), 1490–506.
 33. Biermans G., Horemans N., Vanhoudt N., Vandenhove H., Saenen E., Hees M., Wannijn J., Vangronsveld J., Cuypers A. 2015. Biological effects of α -radiation exposure by ^{241}Am in *Arabidopsis thaliana* seedlings are determined both by dose rate and ^{241}Am distribution. *J. Environ. Radioact.* **149**, 51–63.
 34. Sevriukova O., Kanapeckaitė A., Lapeikaite I., Kisnieriene V., Ladygiene R., Sakalauskas V. 2014. Charophyte electrogenesis as a biomarker for assessing the risk from low-dose ionizing radiation to a single plant cell. *J. Environ. Radioact.* **136**, 10–15.
 35. Schmittgen T.D., Livak K.J. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method. *Nature Protocols.* **3** (6), 1101–1108.
 36. Vandenhove H., Vanhoudt N., Cuypers A., Hees M., Wannijn J., Horemans N. 2010. Life-cycle chronic gamma exposure of *Arabidopsis thaliana* induces growth effects but no discernable effects on oxidative stress pathways. *Plant Physiol. Biochem.* **48** (9), 778–786.
 37. Kim S.H., Song M., Lee K.I., Hwang S.G., Jang C.S., Kim J.B., Kim S.H., Ha B.K., Kang S.Y., Kim D.S. 2012. Genome-wide transcriptome profiling of ROS scavenging and signal transduction pathways in rice (*Oryza sativa* L.) in response to different types of ionizing radiation. *Mol. Biol. Rep.* **39** (12), 11231–11248.
 38. Goh E.J., Kim J.B., Kim W.J., Ha B.K., Kim S.H., Kang S.Y., Seo Y.W., Kim D.S. 2014. Physiological changes and anti-oxidative responses of *Arabidopsis* plants after acute and chronic γ -irradiation. *Radiat. Environ. Biophys.* **53** (4), 677–693.
 39. Kang G., Yan D., Chen X., Yang L., Zeng R. 2021. HbWRKY82, a novel IIc WRKY transcription factor from *Hevea brasiliensis* associated with abiotic stress tolerance and leaf senescence in *Arabidopsis*. *Physiol. Plant.* **171** (1), 151–160.
 40. Garcia-Mata C., Wang J., Gajdanowicz P., Gonzalez W., Hills A., Donald N., Riedelsberger J., Amtmann A., Dreyer I., Blatt M.R. 2010. A minimal cysteine motif required to activate the SKOR K^+ channel of *Arabidopsis* by the reactive oxygen species H_2O_2 . *J. Biol. Chem.* **285** (38), 29286–29294.
 41. Adem G.D., Chen G., Shabala L., Chen Z.H., Shabala S. 2020. GORK Channel: A Master Switch of Plant Metabolism? *Trends Plant Sci.* **25** (5), 434–445.
 42. Lacombe B., Pilot G., Gaymard F., Sentenac H., Thibaud J.B. 2000. pH control of the plant outwardly-rectifying potassium channel SKOR. *FEBS Lett.* **466** (2–3), 351–354.
 43. Grinberg M., Nemtsova Y., Ageyeva M., Brilkina A., Vodenev V. 2023. Effect of low-dose ionizing radiation on spatiotemporal parameters of functional responses induced by electrical signals in tobacco plants. *Photosynth. Res.* **157** (2–3), 119–132.
 44. Falhof J., Pedersen J.T., Fuglsand A.T., Palmgren M. 2016. Plasma membrane H^+ -ATPase regulation in the center of plant physiology. *Mol. Plant.* **9** (3), 323–337.
 45. Röttinger E.M., Hug O. 1972. The effects of low energy X-rays on membrane potential, membrane resistance and action potential of *Nitella flexilis*. *Radiat. Res.* **50** (3), 491–503.
 46. Marčiulionienė D., Lukšienė B., Montvydienė D., Sakalauskas V., Sevriukova O., Druteikienė R., Jefanova O., Žukauskaitė Z. 2017. Radiocesium phytotoxicity to single cell and higher plants. In: *Impact of cesium on plants and the environment*. Eds Gupta D.K., Walther C. Cham: Springer, p. 209–230.

Analysis of Molecular Mechanisms of Chronic Irradiation Effects on Electrical Signals in Wheat Plants

© 2024 г. П. А. Pirogova¹, Т. А. Zdobnova¹, А. В. Ivanova¹, М. А. Grinberg¹, В. А. Vodeneev^{1, *}

¹National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, 603022 Russia

*e-mail: v.vodeneev@mail.ru

The effect of ionizing radiation (IR) on plants is mainly realized by altering the status of signaling systems and modifying stress signals. Variation potential (VP) is one of the types of electrical signals in plants. IR contributes to an increase in the amplitude of the VP, but the mechanisms of such influence are practically unknown. A possible way to implement changes arising from the action of IR is the regulation of gene expression. In the present work, the changes in the gene expression of participants in the generation and propagation of VP in irradiated plants are investigated. The experiments were performed on 14–15-day-old soft wheat plants (*Triticum aestivum* L.) grown under chronic irradiation (source ⁹⁰Sr-⁹⁰Y) with a dose rate of 31.3 µGy/h. The maximum accumulated dose was about 11.3 mGy. The irradiated plants showed no changes in the expression of calcium (*TPC1*), anionic (*ALMT1* and *CLC1*), potassium (*AKT1*) channels, H⁺-ATPase (*HAI*), and NADPH oxidase (*RBOHs*) genes. A decrease in the expression of the *SKOR* potassium channel gene was revealed. The potassium channel blocker, tetraethylammonium chloride, caused an increase in response amplitude in control plants comparable to the increase in amplitude in the irradiated group. The obtained results indicate that one of the ways IR influences the electrical signals of plants is to inhibit the expression of the potassium channel.

Keywords: ionizing radiation, long-distance electrical signals, variation potential, potassium channels, *SKOR*, *Triticum aestivum*