

## ДОЛГОСРОЧНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ЧЕРНОБЫЛЬСКИХ РАДИОНУКЛИДНЫХ ЗАГРЯЗНЕНИЙ НА РЕПАРАЦИЮ ДНК И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К БИОТИЧЕСКИМ И АБИОТИЧЕСКИМ СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ

И. БУБРЯК<sup>1</sup>, Т. АКИМКИНА<sup>3</sup>, В. ПОЛИЩУК<sup>4</sup>, А. ДМИТРИЕВ<sup>5\*</sup>, К. МАККРЕДИ<sup>2</sup>, Д. ГРОДЗИНСКИЙ<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Отдел патологии имени Дюнна, Оксфордский университет, Великобритания

E-mail: ivan.boubriak@path.ox.ac.uk

<sup>2</sup> Университет Оксфорд Брукс, Великобритания

<sup>3</sup> Компания «Фармстор», Москва, РФ

<sup>4</sup> Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Украина

<sup>5</sup> Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Киев

\* E-mail: dmyt@voliacable.com

*Спустя 30 лет после аварии на Чернобыльской АЭС нам по-прежнему не хватает информации о генетических популяционных эффектах радионуклидного загрязнения экосистем. Мы не знаем, насколько способны растения адаптироваться к низким дозам хронического ионизирующего излучения и проявлять повышенную устойчивость к радиации, как и не убеждены в том, могут ли растения справляться с повышенной патогенностью грибов и вирусов в Чернобыльской зоне отчуждения. Если в популяциях видов растений быстро накапливается мутационный груз, следует ожидать быстрых микроэволюционных изменений в биоте зоны отчуждения Чернобыльской АЭС. В настоящем обзоре предпринята попытка суммировать имеющуюся информацию по этим аспектам генетики и радиобиологии растений, а также радиоэкологии и сделать выводы о наиболее актуальных направлениях дальнейших исследований возможных негативных последствий радионуклидного загрязнения экосистем.*

**Ключевые слова:** хроническое облучение, радионуклидное загрязнение, эффекты малых доз, радиоадаптация, биота в радиационных полях, популяционная радиобиология, микроэволюция.

**Введение.** Авария на Чернобыльской атомной электростанции 26 апреля 1986 г. была самой тяжелой ядерной катастрофой в истории атомной энергетики с 1954 года, когда был запущен первый в мире атомный реактор для выработки электроэнергии на атомной электростанции (АЭС) в Обнинске (РФ). Выбросы радиоактивности из поврежденного четвертого блока Чернобыльской АЭС в течение первых десяти дней после аварии состояли из радио-

активных газов, конденсированных аэрозолей и большого количества частиц топлива. Общий выброс радиоактивных материалов составил около 14 ЭБк, в том числе 1,8 ЭБк <sup>131</sup>I, 0,085 ЭБк <sup>137</sup>Cs, 0,01 ЭБк <sup>90</sup>Sr и 0,003 ЭБк радионуклидов плутония. На долю благородных газов приходилось около 50 % от общей радиоактивности выбросов [1]. Более 200 000 км<sup>2</sup> Европы были загрязнены цезием-137 с поверхностной плотностью выше 37 кБк/м<sup>2</sup>. Более 70 % этой территории сосредоточено в Белоруссии, России и Украине. Интенсивность радиоактивных выпадений была чрезвычайно разнообразна, так как она была повышенной в тех местах, где во время прохождения радиоактивных воздушных масс шли дожди [2]. В дополнение к широкомасштабной дисперсии радиоактивного загрязнения ученые столкнулись с такими специфическими проблемами радионуклидного загрязнения, как наличие многочисленных «горячих частиц», различной растворимостью радионуклидов, входящих в состав карбидов и оксидов, взаимодействие с химическими соединениями и т.д. [3, 4].

Наиболее высокие уровни загрязнения экосистем были обнаружены в 30-километровой зоне отчуждения вокруг Чернобыльской АЭС. Известно, что реакция растений зависит от дозы излучения, мощности дозы, типа облучения, генетически детерминированной радиочувствительности различных видов и косвенных эффектов от других факторов среды. Крайне важно, чтобы в любом исследовании последствий аварии на Чернобыльской АЭС учитывалось время проведения экспериментов, поскольку с течением времени после аварии условия облу-

© И. БУБРЯК, Т. АКИМКИНА, В. ПОЛИЩУК,  
А. ДМИТРИЕВ, К. МАККРЕДИ, Д. ГРОДЗИНСКИЙ,  
2016

чения и результирующие эффекты, обнаруживаемые по прошествии 30 лет после аварии и в первые дни и недели после выпадения радионуклидов, существенно различаются. Радиационно-индуцированные эффекты у растений могут быть классифицированы по трем периодам времени: 1) острый период облучения в течение первых 30 дней после аварии, который связан с наличием в среде высокой радиоактивности короткоживущих радионуклидов в проходящих облаках ( $^{99}\text{Mo}$ ,  $^{132}\text{Te}/\text{I}$ ,  $^{133}\text{Xe}$ ,  $^{131}\text{I}$ ,  $^{140}\text{Ba}/\text{La}$ ); 2) второй период, продолжавшийся до конца первого года радиационного облучения, в течение которого короткоживущие радионуклиды распались, а долгоживущие радионуклиды перераспределились между различными компонентами окружающей среды благодаря ряду физических, химических и биологических процессов; 3) третий период, который является продолжением фазы хронического [5] облучения, обусловленного в основном радиацией, испускаемой загрязнением среды более долгоживущими радионуклидами цезия, стронция, плутония и америция [6]. Радиационные эффекты у растений в первом периоде, когда дозы вблизи поврежденного реактора достигали 20 Гр в сутки, и во второй период облучения, когда уровень мощности дозы был на порядок меньше, чем в первый период, хорошо изучены и проанализированы [7–12]. В настоящей работе основное внимание уделено отдаленным радиационным последствиям Чернобыльской катастрофы, которые проявляются в третьем периоде, когда уровни мощностей доз облучения были меньше 1 % от начальных значений. Мы попытались проанализировать возможные механизмы адаптации растений к повышенным уровням облучения и формирования их устойчивости к биотическим и абиотическим факторам.

#### **Радиационное повреждение растений и восстановление повреждений ДНК**

Облучение растительных клеток ионизирующим излучением активирует ряд событий, происходящих между первоначальным поглощением энергии и конечным биологическим повреждением. Как прямые (когда энергия поглощается непосредственно молекулами-мишенями), так и косвенные эффекты облучения

достаточно хорошо известны. В случае косвенного действия энергия излучения поглощается разными молекулами содержимого клетки, что сопровождается появлением промежуточных химически активных продуктов, которые диффундируют в клетке и атакуют молекулярные структуры, являющиеся мишенями [13]. Облучение приводит к радиолузу молекул воды в клетках растений, производя наиболее реакционно-активный первичный радикал  $\cdot\text{OH}$ , который отвечает за многочисленные молекулярные повреждения в клетках и индуцирует их пролиферативную гибель. Другие активные формы кислорода (АФК), такие как пероксид водорода или менее активные органические радикалы, также ответственны за возникновение генетических аномалий в клетках растений [14]. Свободные радикалы оказывают вредное воздействие на многие системы клетки, например на мембраны и ДНК, однако доказано, что повреждение ДНК является определяющим в формировании генетически значимых поражений клетки.

Ряд повреждений ДНК, как известно, формируются после воздействия ионизирующего излучения и появления свободных радикалов. При этом наиболее распространенными повреждениями являются односторонние (SSB) и двусторонние разрывы (DSB), гидролизная депуринизация, возникновение апириимидиновых сайтов, окислительное повреждение оснований и фосфодиэфирной связи ДНК [15–17]. DSB являются наиболее генотоксичными формами повреждения ДНК, следовательно с ними связана проблема пострадиационного восстановления клетки. Неспособность восстановить такие разрывы в ДНК может привести к транслокации, делеции и другим хромосомным аномалиям, включая потерю хромосомного плеча [18]. Кроме того, неустраненные разрывы в делящейся клетке могут инициировать блоки контрольно-пропускных пунктов клеточного цикла, останавливая деление и, как следствие, замедление роста организма [16, 19].

Репарация ДНК в координации с репликацией имеет важное значение для поддержания целостности генома и выживания растений, поэтому раскрытие механизмов репарации ДНК у растений представляет собой очень актуальную задачу. Из нескольких путей репарации

ДНК наиболее полно исследовано восстановление ДНК от УФ-повреждений и создан банк мутаций, затрагивающих механизм фотовосстановления облученных ультрафиолетовыми лучами клеток [20, 21]. Гораздо менее подробно изучены восстановительные механизмы у клеток растений, подвергающихся действию ионизирующего излучения или имеющих окислительные повреждения [13, 15, 22].

Растения обладают эксцизионной репарацией (BER), способностью восстанавливаться путем выщепления поврежденных нуклеотидов (NER) и репарацией так называемых мисматч-повреждений (ошибок, возникающих при репликации ДНК) (MMR), и все эти механизмы могут играть определенную роль в устранении радиационных или окислительных повреждений ДНК. У растений большая часть гликозилаз ДНК, которые инициируют первые шаги эксцизионной репарации окислительного повреждения, бифункциональны, проявляя гликозилазную и лиазную активность. Они не только способны подвергать гидролизу гликозильную связь, чтобы освободить поврежденное основание, но и расщеплять при этом нить ДНК [15]. Ряд ферментов, которые проявляют действие на разных повреждениях ДНК, возникающих в результате действия гамма-облучения, найдены у резуховидки Таля (*Arabidopsis thaliana*) [23, 24]. Ферменты AtNTH1 и AtNTH2 способны катализировать образование мочевины и тимингликола из облученной двухцепочечной полидезоксирибонуклеотидной цепи. Гены ферментов, специфичные для наиболее распространенной формы окислительного повреждения ДНК, 8-охоG (AtMMH и AtOGG1), были клонированы в резуховидке Таля [23, 25, 26]. В растениях обнаружены и другие белки BER, в том числе участвующие в формировании пробела (AP эндонуклеазы: AtARP, AtAPE1, AtPE2), в синтезе ДНК и лигазной реакции (AtPOLL, OsPOLP1, AtLIG1) [27–30].

Хотя большая часть окислительных повреждений у растений устраняется с помощью BER механизма, универсальный NER путь представляет собою резервный вариант репарации окислительных и радиационных повреждений [31]. Первый этап NER заключается в раскручивании спирали ДНК и расщеплении

нитимолекулы по обе стороны от поврежденного нуклеотида. В последующем после удаления поврежденного участка молекулы возникший пробел заполняется вновь синтезируемым с участием ДНК-полимераз фрагментом, концы которого связываются с соответствующими местами пробела в основной молекуле ДНК с помощью лигазы. Ключевые компоненты NER в растениях обнаружены с помощью генетического анализа мутантов резуховидки Таля. К этим компонентам относятся эндонуклеазы AtRAD1, AtRAD2/XPG и AtERCC1, геликазы AtXPB1, AtXPB2 и лигазы AtLIG4, AtLIG6 [18, 32–35]. Подобные белки (гомологи) NER встречаются и у других видов растений, таких как рис (*Oryza sativa*), виноград (*Vitis vinifera*) и мох (*Physcomitrella patens*) [15].

Наиболее часто встречающиеся повреждения ДНК после гамма-облучения растений представляют собой односторонние разрывы ДНК. Те из них, которые имеют концевые повреждения, нанесенные АФК, такие как 3'-фосфатная или фосфогликолатная группа, не могут быть восстановлены в одну стадию ДНК-лигазами и в широком смысле подвергнуться репарации посредством либо BER, либо NER механизмов. Для всех эукариотических клеток, в том числе растительных, белки из надсемейства PARP предположительно являются сенсорами SSB. PARP функционируют как сенсоры повреждений нуклеотидов в ДНК, в результате мобилизуются белки, необходимые для завершения репарации: заполнения пробелов и лигирования ДНК [5, 36]. Облучение растений *A. thaliana*, сопровождающееся появлением SSB, также приводит к накоплению в растениях белков AtPARP1 и AtPARP2, обладающих (АДФ-рибоза) полимеразной активностью, что способствует репарации ДНК [37, 38]. В растениях содержится еще одна уникальная группа белков, репарирующих ДНК, которые обнаруживают разрывы ДНК и катализируют удаление 3'-конца поврежденного участка молекулы, выполняя, таким образом, важную роль в устранении SSB [39, 40].

Несмотря на то, что растения обладают рядом различных механизмов защиты от облучения и окислительного повреждения, некоторые повреждения могут не подвергнуться репарации, что может серьезно нарушить реп-

ликацию ДНК, индуцировав блок этого процесса. Чтобы задействовать восстановление ДНК в случае появления в ней окислительных повреждений, растения обладают ДНК-полимеразами, которые способны обходить повреждения и синтезировать фрагмент ДНК, заменяющий поврежденный участок молекулы (TLS). Одним из примеров такой TLS-полимеразы ДНК является обнаруженный у ризуховидки Таля белок AtPOLK, который способен синтезировать нуклеотидную последовательность, заменяющую участок с поврежденным нуклеотидом 8-охоG [41, 42]. Такой механизм эффективно репарирует повреждения, появление которых связано с неадекватным встраиванием нуклеотидов при репликации (мисматч-повреждения). Этот механизм репарации обнаружен в растениях [43, 44].

Репарация окислительных повреждений SSB в растениях имеет очень большое значение, и в том случае, если эти повреждения не будут устранены, могут образоваться двунитевые разрывы ДНК (DSB), которые также возникают в местах формирования кластеров гидроксильных радикалов, генерируемых в клетках растений при их облучении ионизирующей радиацией. Как уже упоминалось, репарация DSB имеет решающее значение как для профилактики большей части генетических аномалий, так и для выживания клеток растений. В настоящее время мы владеем обширными знаниями о механизме репарации DSB в растениях, которые осуществляются с помощью гомологичной рекомбинации (HR) или путем негомологичной рекомбинации, соединения концов пробела (NHEJ) [45–48].

При гомологичной рекомбинации первым шагом процесса является распознавание DSB, которое осуществляется белком MRN (MRX) и комплексом узнавания CtIT совместно с BRCA1 и BARD1, гомологи которых обнаружены в растениях [49–51]. Растения также обладают рядом геликаз RecQ типа, которые необходимы для полной резекции [52, 53]. На следующем этапе этого процесса одноцепочечная часть молекулы ДНК 3'-концом соединяется с продуктом RPA1, который в итоге может быть заменен белком RAD51; все это обеспечивает проникновение нуклеотидной последовательности в гомологичную структуру.

Три гомолога RPA1 и по меньшей мере четыре белка, аналогичные RAD51, найдены в ризуховидке Таля [54], однако функции некоторых из них пока еще остаются нераскрытыми [47, 55, 56]. Дальнейшие шаги в гомологичной рекомбинации менее обстоятельно изучены у растений, хотя две модели этого процесса рассматриваются как вполне соответствующие известным фактам: это репарация двухцепочечного разрыва ДНК (DSBR) или восстановление структуры двойной спирали ДНК, отжига (SDSA) [57].

В растениях механизмы HR и NHEJ конкурируют друг с другом в зависимости от типа концов на DSB. В дополнение к этому отметим, что выбор путей репарации ДНК в растительных клетках зависит от типа клеток, стадии развития растения и фазы клеточного цикла [58, 59], причем NHEJ до сих пор считается преобладающим механизмом репарации DSB [57]. На первом этапе пути NHEJ гетеродимер Ku70–Ku80 связывается с концами в области разрыва ДНК, чтобы предотвратить деградацию молекулы ДНК. Завершение процесса репарации разрывов осуществляется при участии белков Rad50 и MRE11 с последующим лигированием при помощи ДНК-лигазы IV и XRCC4. Мутанты *A. thaliana*, Atku70 и Atku80, чувствительны к действию DSB-индуцирующих агентов. Подтверждено прямое взаимодействие между белками AtKU70 и AtKU80 на концах пробелов в ДНК [60, 61]. Наличие в растениях обоих мутантов (Atrad50 и Atmre11) описано в литературе, а лигазный комплекс AtLIGIV и AtXRCC4 выделен из растений после индукции их синтеза действием ионизирующего излучения [62–65].

Имеются по крайней мере четыре различных пути NHEJ в растениях [48], и все они могут привести к появлению делеций или инсерций в ДНК, поскольку при воссоединении нитей в двойной спирали ДНК не сохраняется надлежащая точность нуклеотидной последовательности в области рекомбинации. В связи с этим происходит накопление генетических изменений организма после ионизирующего облучения. Это явление будет описано ниже.

После облучения растений в их клетках происходят сложные сигнальные процессы, направленные на регуляцию восстановительных

процессов, которые могут свести к минимуму вредные последствия, вызываемые накоплением повреждений ДНК. Обнаружены такие эффекты клеточной сигнализации: задержка клеточного цикла, необходимая для наиболее полного осуществления репарации ДНК, а также активация генов, необходимых для репарации и обеспечения других видов клеточной защиты. У растений, как и в клетках млекопитающих, две протеинкиназы – AtATM и AtATR – участвуют в процессах ранней сигнализации: активация AtATM происходит при накоплении DSB, тогда как активирование AtATR в первую очередь зависит от появления одноцепочечной ДНК в вилке репликации или при эксцизионной репарации [66, 67]. Причастные к этим процессам факторы, активируемые стресс-киназами растений, недавно были клонированы, а их действие описано [68, 69]. Из этих супрессоров реакции на облучение гамма-радиацией белок AtSOG1 играет решающую роль, аналогичную p53 в клетках млекопитающих. Белок-киназа AtWEE1 участвует в контроле клеточного цикла, активируя его контрольные пункты [70, 57].

Наиболее экспрессируемым геном после острого гамма-облучения растений является AtBRCA1 [66]. Активность этого гена после облучения возрастает в сотни раз, что указывает на важность репарации DSB в растениях. Поскольку белок RAD51 также имеет большое значение для HR, то неудивительно, что активность этого гена существенно повышается в растениях после их облучения, что наблюдается во многих живых существах [47, 71, 72]. К другим активно регулируемым генам относят лигазу AtXRCC2, хеликазу AtRECQ3, AtPARP гены BER пути репарации ДНК, регулятора контрольных пунктов клеточного цикла AtWEE1, AtRPA белки и многие другие [57, 73].

Большая часть повреждений ДНК и репарационных реакций у растений исследованы при действии острого гамма-облучения. Вместе с тем имеется весьма ограниченная информация о динамике накопления повреждений ДНК и молекулярных механизмов восстановления от радиационного поражения в зависимости от дозы, типа радиации и способа облучения растения [74]. Если растения *A. thaliana* подвергались воздействию хронического или ос-

трого облучения, в них обнаруживалось дифференциальное регулирование генов, обеспечивающих все механизмы репарации ДНК. Отсутствие четко выявляемой активации этих генов в случае низкой мощности дозы (LDR) дает основание предположить, что в таких условиях повреждение ДНК не может быть должным образом выявлено клеточным аппаратом [75]. Воздействие излучения с высокой мощностью дозы (HDR) приводит к значительному повреждению ДНК, что воспринимается растениями как сильный стресс, в результате чего активируются соответствующие защитные механизмы. Эта регуляция является неспецифической, и она распространяется на активацию генов, общих для систем защиты от действия различных абиотических стрессов [76]. В противоположность этому хроническое облучение при той же суммарной дозе 1,0 Гр, накопленной в течение 21 дня ( $0,3 \cdot 10^{-4}$  Гр/мин), не изменяет профиля экспрессии генов репарации ДНК или других генов устойчивости к стрессу [75], что подтверждает правомерность гипотезы о том, что для включения процессов формирования защитных систем клетки необходимо превысить некий порог повреждения [77, 78].

Гамма-облучение при различных мощностях дозы также вызывает появление различных повреждений ДНК в клетках петунии гибридной (*Petunia hybrida*). При этом наблюдались значительные колебания накопления DSB и их репарации при HDR (5,15 Гр/мин) и LDR (0,33 Гр/мин) в период времени от 0 до 4 ч после облучения [74]. И, наконец, дифференциальное появление микроРНК, принимающих участие в регуляции экспрессии некоторых генов репарации ДНК, обнаружено в растениях риса как ответ на действие низкой и высокой мощности дозы гамма-облучения [79].

Все эти данные свидетельствуют о том, что острое и хроническое воздействие ионизирующего излучения оказывает различное влияние на целостность генома, что необходимо учитывать при изучении последствий выращивания растений в загрязненных радионуклидами экосистемах, где растения в основном подвергаются воздействию низкой мощности дозы хронического гамма-облучения. К тому же в случае загрязнения радионуклидами популя-

ций растений, как это произошло после аварии на Чернобыльской АЭС, ситуация еще более усложняется из-за наличия различных типов излучений, отличающихся значениями линейной передачи энергии (ЛПЭ). Генетические последствия для растений, подвергающихся в течение ряда поколений облучению радиацией сложного состава от внешних источников облучения и депонированных в собственных тканях излучателей, базируясь только на значении доз, предсказать вряд ли возможно.

### Генетические последствия аварии на Чернобыльской АЭС у растений

Реакция растений на радиоактивное загрязнение в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС отражает очень сложное взаимодействие между дозой облучения, мощностями дозы, временным и пространственным варьированием условий облучения, сочетанием внешнего и внутреннего облучения, радиочувствительностью различных таксонов и многих других косвенных факторов [6]. Из-за сложности эффектов и их взаимодействий оценка генетического риска для популяций растений, произрастающих на территориях с разными уровнями радионуклидных загрязнений, является весьма сложной задачей, решение которой имеет первостепенное значение в связи с тем, что нужно определить безопасные способы природопользования на радиационно опасных территориях.

Существуют различные методы скрининга процессов мутирования соматических клеток растений. Они состоят в анализе частот возникновения хромосомных aberrаций, в определении частот образования микроядр, а также в использовании более продвинутых подходов, например таких, как измерения частоты мутаций в повторяющихся последовательностях ДНК, называемых «расширенными простыми тандемными повторами» (ESTR), или таких как использование трансгенных растений с геном-репортером, что облегчает оценку скоростей гомологичной рекомбинации и стабильности генома [80–82].

Цитогенетические исследования, проведенные в связи с аварией на Чернобыльской АЭС, могут быть сгруппированы следующим образом: 1) данные, полученные в течение первых нескольких лет после аварии, когда радиация

характеризовалась более высокой мощностью дозы; 2) результаты экспериментов, проведенных в последующие десятилетия, когда оценивались эффекты хронического воздействия радиации. Большинство результатов из ранних исследований убедительно показали повышенные мутационные грузы у растений. Результаты последнего десятилетия в отношении указанного индекса были более спорными [6].

Ранние цитогенетические исследования в Чернобыле, проведенные на озимой ржи и озимой пшенице урожая 1986 г., продемонстрировали наличие зависимости от дозы числа aberrантных клеток. Так, наблюдалось значительное увеличение выхода хромосомных aberrаций по сравнению с контрольным уровнем при поглощенной дозе 3,1 Гр. Анализ трех последовательных поколений озимой ржи и озимой пшеницы, выращиваемых на сильно загрязненных участках, показал, что частота появления aberrантных клеток в интеркалярных меристемах во втором и третьем поколениях была выше, чем в первом, а это означает, что при хроническом облучении растений из поколения в поколение происходит накопление груза генетических повреждений, в чем проявляется кумулятивный эффект пролонгированного или хронического облучения [83]. В дальнейшем исследовании озимой пшеницы, которая произошла от двух генетически идентичных популяций, полученных из одной и той же однородной родительской линии, растения выращивали на участках с сопоставимыми агрохимическими характеристиками при высоком (900 Ки/км<sup>2</sup>) или низком (менее 1 Ки/км<sup>2</sup>) уровнях радионуклидного загрязнения. Результаты этого эксперимента подтвердили повышение частоты возникновения мутаций с возрастанием уровня радиоактивного загрязнения. Если спонтанная частота мутаций была  $1,03 \cdot 10^{-3}$  на локус, то в облученной группе растений эта частота составила  $6,63 \cdot 10^{-3}$ . Как видим, частота мутирования за одно поколение возросла более чем в шесть раз. В этом эксперименте общая доза облучения растений пшеницы не превышала 0,3 Гр с дозами внешнего и внутреннего облучения соответственно 0,2 и 0,1 Гр. Поскольку при такой малой дозе облучения не должно происходить столь значительное возрастание час-

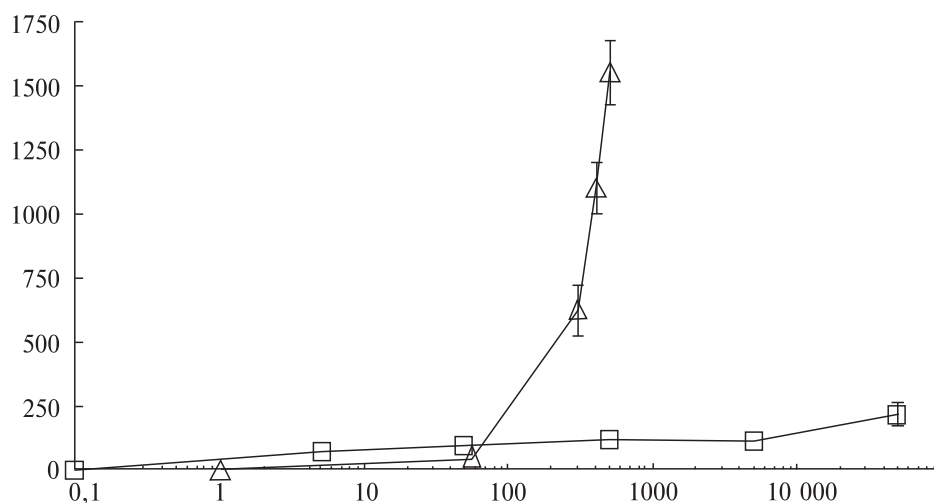
тоты возникновения мутаций, приходится предполагать, что в дополнение к хроническому воздействию ионизирующего излучения оказывают влияние пока еще не раскрытые факторы.

Очень полезное модельное растение — резуховидка Таля (*A. thaliana*) также было использовано в генетических исследованиях, поскольку этот вид произрастает на всех загрязненных территориях вокруг Чернобыля. С 1986 по 1992 гг. изучали динамику появления у этого растения мутаций в зависимости от уровня загрязнения и выявили четкую корреляцию между значениями частоты и накопленной дозой облучения. Хотя в последующие годы частота мутаций проявляла тенденцию к снижению, даже в 1992 г. она была в 4–8 раз выше спонтанного уровня [85]. Другим аборигенным видом в зоне ЧАЭС, радиобиологические реакции которого подробно изучены не только в первой острой фазе Чернобыльской аварии, но и в последующие годы, является сосна обыкновенная (*Pinus sylvestris*), которая, как известно, принадлежит к очень радиочувствительным древесным видам [86]. В первые годы после аварии у сосны, растущей в зоне отчуждения ЧАЭС, частота мутаций в локусах ряда ферментов была в 4–17 раз выше, чем у деревьев контрольной популяции [87, 88]. Цитогенетические эффекты радионуклидного загрязнения у сосны были прослежены в период с 2003 по 2009 гг. Оказалось, что и в эти годы частоты аберрантных клеток, а также более тяжелых типов цитогенетических изменений (например, многополюсных митозов и отставания хромосом в митозе) обнаруживались в клетках сосны в каждом году исследования [89]. Возникновение цитологических нарушений становится более частым при увеличении поглощенной дозы и уровня радиоактивности  $^{137}\text{Cs}$  [90]. Наконец в экспериментах, проведенных на сосновых шишках, которые собраны в декабре 2009 г., зарегистрировано значительное возрастание выхода мутаций в локусах ряда ферментов при воздействии на деревья хронического облучения при весьма низкой мощности дозы (всего лишь 0,8 мкГр/ч). Даже спустя 20 лет после первоначального загрязнения основные параметры генетической изменчивости хронически облучаемых популя-

ций сосны обыкновенной были значительно выше, чем значения для растений с контрольного участка. Изменения в генетической структуре популяций сосны обыкновенной наблюдались при мощности дозы более 10,4 мкГр/ч [91]. Упомянутая мощность дозы, при которой выявлены генетические изменения у сосны, оказалась намного ниже, чем ранее установленное значение такой дозы в качестве базового уровня для данного эффекта [92, 93]. Конечно, следует помнить, что сосна, обитающая в Чернобыльской зоне, первоначально (в 1986 г.) получила высокую дозу облучения от короткоживущих радионуклидов, которые к настоящему времени практически полностью распались. Не исключено, что облученные растения могут передавать в ходе митотических и мейотических делений клеток изменения, индуцированные облучением или воздействием стресса иной природы. При этом потомство приобретает некий след облучения их родительских форм [94], что может в частности объяснить ранее описанное явление, состоящее в том, что в популяциях растений, обитающих на радиоактивно загрязненных территориях, наблюдаются более заметные генетические нарушения, чем можно было бы ожидать, исходя из известной зависимости эффекта от доз облучения. Молекулярный механизм таких реакций растений в достаточной степени еще не изучен и будет обсуждаться ниже.

Помимо частоты мутаций в соматических клетках, после облучения очень важно также следить за частотой возникновения мутаций в генеративных клетках, так как они ответственны за передачу генетической информации будущим поколениям. Такие клетки у диплоидных организмов гаплоидны, а потому они не обладают преимуществами диплоидных клеток, которые имеют две копии генетического материала. Вследствие этого гаплоидные клетки (гаметы) отличаются высокой радиочувствительностью [3]. Генотоксичные последствия чернобыльского загрязнения были изучены на ваху-мутациях ячменя. Повышение уровня радионуклидного загрязнения привело к более высокой частоте нарушений мейоза и процессов формирования мужского гаметофита у ячменя [95]. Эта мутантная форма ячменя была также использована для количественной оцен-

**Рис. 1.** Частоты радиационно-индуцированных реверсий *waxy*-гена пыльцы ячменя (по вертикали,  $10^6$  пыльцевых зерен), собранной в 1987 г. на гамма-поле (квадраты) и на почвах, загрязненных радионуклидами в зоне ЧАЭС (треугольники). По горизонтали — мощность дозы, мкГр [3]



ки частоты реверсий мутации в зрелых пыльцевых зернах растений, выращиваемых на участках с разными уровнями чернобыльских загрязнений [3]. *Waxy*-тест на пыльце ячменя оказался достаточно чувствительным, чтобы зарегистрировать достоверное увеличение частот реверсии мутации у растений, подвергшихся воздействию всего лишь 3 мГр в течение 55 дней. Оказалось, что при получении дозы в 50–200 мГр от внешнего источника излучения частота мутаций в пыльце ячменя удваивается. Кроме того, установлено, что при расчете частоты проявления реверсий на единицу дозы меньшие мощности дозы были более вредными, чем высокие. Однако самым поразительным результатом этого исследования оказался следующий факт: в случае облучения ячменя от радионуклидов, содержащихся в почве и накапливающихся в тканях растений, частота реверсий *waxy*-гена возрастала с увеличением дозы облучения, следуя экспоненциальной зависимости. При действии гамма-радиации в условиях гамма-поля зависимость частоты реверсий *waxy*-гена была линейной. Отмеченные различия дозовых зависимостей, видимо, объясняются тем, что внутреннее облучение отличается большей эффективностью, чем внешнее, а кроме того, при радиоактивном загрязнении среды радионуклидами растение подвергается действию не только гамма-радиации, но и корпускулярного излучения (рис. 1).

Совершенно очевидно, что мы сталкиваемся здесь с более высокой генотоксичностью

комбинированного облучения, обусловленного смешанным загрязнением среды радионуклидами, чем от аналогичных доз внешнего хронического гамма-облучения. Очевидно, мутагенные эффекты в клетках растений в случае загрязнения радионуклидами популяций растений не могут быть экстраполированы только на основании измеренных значений дозы, и необходимы специальные исследования генотоксичности конкретных радионуклидных смесей и возможного действия токсичных химических агентов, которые могут проявлять синергизм с ионизирующими излучениями.

С уровнем цитогенетических повреждений в соматических и половых клетках однозначно связана репродуктивная способность, адаптивная дифференциация и общая судьба популяций растений [3, 91]. Поэтому особого внимания заслуживает изучение адаптационной стратегии популяции растений к условиям хронического облучения.

#### Адаптационная стратегия популяций растений в условиях хронического облучения в Чернобыльской зоне

Растения, произрастающие в загрязненных районах Чернобыльской АЭС с 1986 г., постепенно накапливают радиационные повреждения. Эти растения подвергаются действию альфа-, бета- и гамма-радиации от внешних источников излучений, а также облучению от внутренних источников радиации — радионуклидов, которые поглощаются корнями или

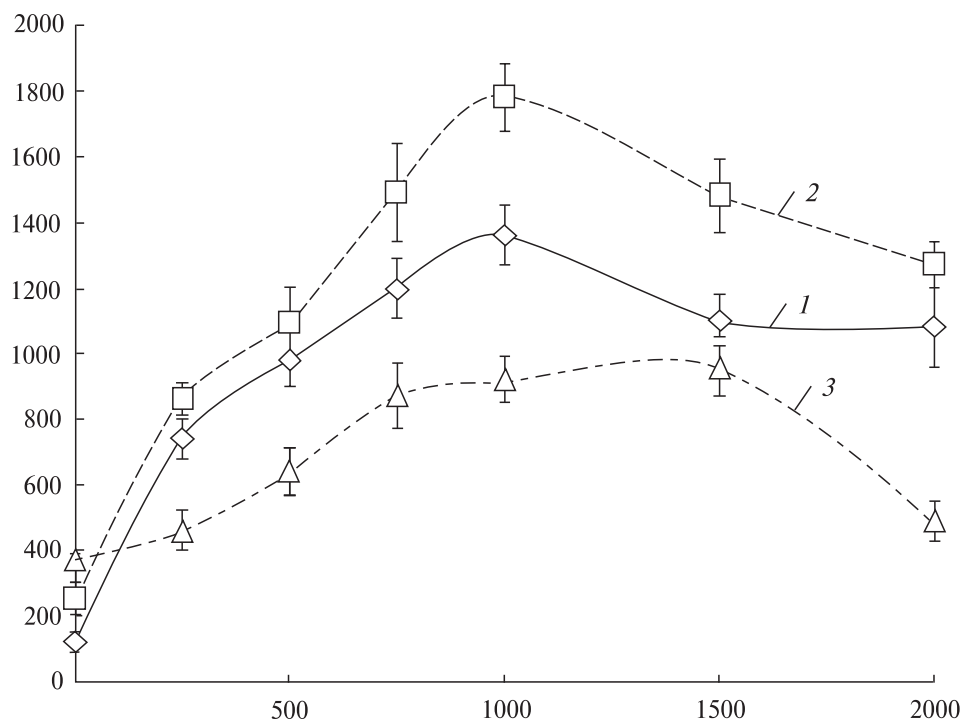


попадают на поверхностные ткани [4]. Это комбинированное облучение приводит к накоплению повреждений ДНК в каждой клетке, и можно было бы ожидать, что под влиянием такого хронического облучения в популяции развивается некая защитная реакция и происходит адаптация растений к радиационному стрессу. Адаптационная реакция может рассматриваться как неспецифический феномен, в котором воздействие минимального по интенсивности радиационного стресса может привести к повышенной устойчивости к более высокому уровню тех же или других видов стресса [96]. Адаптация представляет собой сложный процесс, в котором популяции организмов реагируют на долгосрочное действие абиогенных стрессов посредством постоянно происходящих генетических изменений [97]. Среди возможных основных механизмов адаптации следует отметить активацию множественных сигнальных путей, которые запускают клеточные защитные механизмы, в том числе активацию систем репарации ДНК, синтеза антиоксидантных соединений и накопление веществ – перехватчиков свободных радикалов. Тем не менее наши знания об адаптации растений к хроническому облучению по-прежнему остаются весьма неполными. Экологические исследования в районе Чернобыльской АЭС выявили популяции некоторых видов растений, которые приобрели адаптированность к радиоактивному загрязнению почв, несмотря на наличие генетических повреждений у хронически облучаемых растений [98, 99]. Механизм адаптации популяций к хроническому облучению пока остается неясным. Впрочем вполне очевидно, что к такой адаптации причастна активация репарации ДНК, и у нас имеются доказательства того, что репарация SSB и DSB играет существенную роль в адаптивных реакциях растения [96, 100]. Таким образом, во многих исследованиях, проведенных с растениями, которые подвергались облучению от радионуклидного загрязнения в зоне Чернобыльской АЭС, обнаруживалось повышение эффективности различных механизмов репарации ДНК. В проведенных еще в первые годы после аварии на ЧАЭС экспериментах с пыльцой березы не обнаружили каких-либо доказательств наличия радиационной сти-

муляции репарации ДНК или каких-либо изменений в экспрессии ферментов репарации ДНК [101], хотя, как известно, пыльца березы способна адаптировать репарационную функцию в ответ на стресс, обусловленный УФ-облучением [102]. В этих экспериментах показано, что синтез ферментов репарации ДНК сильно заторможен в первом поколении пыльцы, образовавшейся на деревьях березы спустя один год после аварии на Чернобыльской АЭС [103]. В последующие годы (1988–1990) у пыльцы заметно восстановилась способность репарировать поврежденную облучением ДНК, кроме пыльцы, образуемой в генеративных органах деревьев, произрастающих на участках с очень высокими уровнями радионуклидного загрязнения, при которых в спорогенную ткань попадали радионуклиды, излучающие альфа-, гамма- и бета-радиацию [104]. Лишь много позже в сборах пыльцы 1998 г. обнаружилось, что пыльца, образовавшаяся на деревьях березы, растущих на участках с промежуточными уровнями загрязнения, где доза формировалась за счет гамма- и бета-излучателей, проявляла возросшую способность репарировать ДНК и повышенную устойчивость к облучению (рис. 2).

То, что способность пыльцевых клеток березы репарировать ДНК обнаружилась через много лет после появления радионуклидного загрязнения, не должно удивлять, поскольку адаптация у многолетних растений происходит намного медленней, чем у растений с коротким жизненным циклом и соответственно быстрой сменой поколений, благодаря чему интенсивный отбор может привести к быстрому накоплению генетических изменений в популяции [90]. Тем не менее подобная картина адаптации продемонстрирована на семенах сосны обыкновенной. Так, семена, собранные в 1997 г. в Чернобыльской зоне, отличались более высокой устойчивостью к действию острого гамма-облучения, хотя частота аберрантных клеток в меристеме проростков была у них повышена [105]. Очевидно, естественный отбор благоприятных мутаций в «классическом смысле» не может играть роль в адаптации долгоживущих многолетних видов растений, поэтому одним из возможных объяснений адаптации в случае сосен является

**Рис. 2.** Зависимость репаративного синтеза ДНК от дозы облучения (по вертикали, имп./мин · мкг ДНК) в пыльце берез, произрастающих при различных уровнях радионуклидного загрязнения (по горизонтали – доза, Гр) [106]: 1 – контроль, 2 – Копачи,  $\gamma/\beta$ -излучение, 3 – Ново-Шепеличи,  $\alpha$ - и  $\gamma/\beta$ -излучение



клеточный внутритканевый отбор по радиочувствительности, при котором устраняются клетки с низкой радиоустойчивостью и пополняется пул клеток, характеризующихся повышенной радиорезистентностью [105]. Альтернативным объяснением описанного эффекта может быть то, что повышение радиоустойчивости при облучении связано с индукцией наследуемых эпигенетических изменений, которые причастны к модуляции экспрессии генов, активируемых соответствующим стрессовым воздействием. Это предположение было проверено на деревьях сосны. Установлено, что у выросших при разных уровнях радионуклидного загрязнения деревьев Чернобыльской зоны наблюдается зависящее от дозы облучения гиперметилирование геномной ДНК [107].

Другой хорошо известный адаптивный ответ на стрессовое воздействие любой природы – увеличение вариабельности признаков растения также может проявляться при воздействии ионизирующих излучений. Увеличение разнообразия морфогенетических признаков зарегистрировано у широко распространенных в зоне ЧАЭС 96 видов растений, принадлежа-

щих к 28 семействам [108]. Чем выше цитогенетическое варьирование у растений, тем более активно осуществляется их адаптация к стрессовым воздействиям, в частности к хроническому облучению [6].

Наиболее полное исследование молекулярных аспектов адаптации растений к условиям жизни в зоне ЧАЭС проведено в 1986–1992 гг. с использованием аутохтонных растений резуховидки Таля [109]. В этих исследованиях была раскрыта роль гомологичной рекомбинации в механизмах адаптации растений. Оказалось, что у адаптированных и поэтому более устойчивых к мутагенам популяций резуховидки Таля частота гомологичной рекомбинации (HR) более чем в 10 раз ниже частоты этих событий в контрольных условиях. В результате снижения частоты HR могут предотвращаться значительные перестройки генома клеток, несмотря на тот факт, что гомологичная рекомбинация, как полагают, сопряжена с увеличением числа возникающих DSB у облучаемых растений, и частота HR, как правило, возрастает после хронического облучения растений [75, 110]. Кроме того, вполне возможно, что при длительном накоплении DSB

в облученных геномах растения к репарации ДНК подключается механизм NHEJ, являющийся более эффективной системой репарации ДНК, но в то же время часто сопровождающийся ошибками в структуре восстанавливаемой полипептидной цепи. Отмечена еще одна особенность адаптированной к радиации популяции резуховидки Талья, состоящая в том, что при воздействии мутагенов (в том числе рентгеновских лучей) у растений обнаружены существенные различия в активации генов, контролирующей синтеза перехватчиков свободных радикалов (CAT1 и FSD3) и определяющих интенсивность репарации ДНК (типа RAD1 и RAD51). При этом отмечался более высокий уровень глобального метилирования генома.

Совершенно очевидно, что адаптация к ионизирующей радиации представляет собой сложный процесс, включающий эпигенетическую регуляцию экспрессии генов и стабилизацию генома. Как правило, адаптация улучшает общее сопротивление растений к стрессам, в том числе повышает их устойчивость к мутагенам окружающей среды [109, 111]. Примером «неспецифической» адаптации к факторам экологического стресса в зоне ЧАЭС могут быть результаты наблюдений над ослинником (*Oenothera biennis*) — растением, обильно цветущим в зоне, загрязненной радионуклидами. Когда семена, собранные спустя 12 лет после радиоактивного загрязнения, подвергали действию стресса, при котором наступало их ускоренное старение, сопровождающееся увеличением фрагментации ДНК и преждевременной гибелью зародышей [112], параметры прорастания были выше у семян растений с загрязненными радионуклидами территорий по сравнению с контрольной группой. Более того, эти отличающиеся повышенной радиостойкостью семена обладали более высокой устойчивостью к осмотическому стрессу [106].

Индукцированная адаптация популяций растений потенциально помогает видам противостоять стрессовым условиям в экологической обстановке их местообитаний. Тем не менее это правило не всегда применимо, и у некоторых радиочувствительных видов может отсутствовать способность к адаптации в той или иной радиоэкологической ситуации [90].

Например, никакой очевидной адаптации к хроническому облучению не обнаруживали у растений льна (*Linum usitatissimum*), выращиваемых на радиоактивно загрязненных территориях Чернобыльской зоны [113]. В то же время у сои, культивируемой в таких же условиях, как и лен, наблюдалась адаптация к хроническому облучению и одновременно к тяжелым металлам [114]. Одни и те же виды могут демонстрировать различные уровни адаптации. Например, радиочувствительность семян сосны (*Pinus sylvestris*), собранных в разное время года или в местообитаниях, различающихся поверхностной плотностью радионуклидных загрязнений, существенно различалась [89].

При отсутствии адаптации к условиям хронического облучения у некоторых популяций растений правомерно возникает вопрос, при каких условиях можно ожидать проявления радиоадаптации. Реакция популяций растений на действие хронического облучения зависит как от биологических особенностей растений (вид, способ размножения, эффективность репарации ДНК, радиостойкость и т.д.), так и от характера облучения (относительная биологическая эффективность излучения, мощность дозы, линейный перенос энергии) [90]. Все эти параметры должны приниматься во внимание при исследовании радиостойкости популяций. Роль различных типов радиации в адаптации была раскрыта в экспериментах с ослинником двулетним. Оказалось, что растения, произрастающие при комбинированном альфа-, гамма- и бета-облучении, не могли адаптироваться к хроническому облучению в отличие от растений, подвергающихся воздействию радиоактивного загрязнения, состоящего только из гамма- и бета-излучателей [106]. Сформулирована вероятная причина неспособности растения адаптироваться к хроническому облучению при наличии альфа-излучателей в среде: клетки не способны повышать эффективность репарации SSB в случае действия плотноионизирующего излучения даже при весьма низких его дозах [101, 115].

Адаптация растений в радиоактивно загрязненных средах, возможно, связана также с изменениями метаболизма, фотосинтетическим

усвоением углекислоты и другими физиологическими процессами [116], от которых может зависеть устойчивость растений, в частности к биотическим стрессам.

#### Черномыльское загрязнение и устойчивость растений к патогенным грибам и вирусам

В дополнение к тому, что в растениях, произрастающих на радиоактивно загрязненных территориях в зоне отчуждения ЧАЭС, накапливаются скрытые генетические повреждения, возникает существенный риск, обусловленный фитопатогенными организмами. Комбинированное действие радиации и биотических стрессов на растения является потенциально опасным для растительных популяций, по крайней мере, по двум причинам. Во-первых, даже при низких дозах хронического облучения может понижаться иммунный потенциал растений и, как результат, уменьшится их способность противостоять инфекции. Во-вторых, радиация может выступать в качестве мутагенного фактора, нарушающего ранее установившееся равновесие в темпах эволюции хозяина и патогена, что может привести к появлению новых высоковирулентных клонов в популяциях патогенных микроорганизмов. После катастрофы на Черномыльской АЭС можно было бы ожидать существенное увеличение темпов радиационного мутагенеза, особенно в тех популяциях возбудителей болезней растений, которые характеризуются высокими темпами репродукции [117]. Среди фитопатогенов многие виды грибов вызывают самые вредоносные заболевания культурных растений, поэтому очень важны исследования действия хронического облучения и растений, и патогенов на риски развития эпифитотий.

Установлено, что под влиянием сравнительно низких доз хронического облучения фитоиммунный потенциал уменьшается. Анализ пораженности мучнистой росой трех сортов пшеницы показал, что степень развития болезни была в два раза выше у растений, выращенных из семян, которые собраны в зоне отчуждения ЧАЭС, чем у растений, полученных из семян растений, которые не испытали облучения [118]. Эти данные подтверждены в ряде экспериментов, связанных с искусственной инокуляцией растений пшеницы

в условиях теплицы. Проростки трех сортов пшеницы, выращенные из семян облученных растений, были заражены в фазе второго листа спорами бурой ржавчины. Оказалось, что пораженность проростков была в 2,6 раза выше, чем в проростках, выращенных из контрольных семян.

Чтобы обнаружить биохимические механизмы, лежащие в основе снижения устойчивости растений при радионуклидном загрязнении среды, проводили анализ ингибиторов протеазы, которые могут образовывать устойчивые комплексы с протеолитическими ферментами патогенов, тем самым ограничивая развитие болезни. При этом использовали растения пшеницы, ржи и кукурузы, выращиваемые при действии хронического облучения. Поглощенная доза за период вегетации на опытных участках, находящихся в 10-километровой зоне ЧАЭС, составляла 7–8 сГр для зерновых культур и 3 сГр для кукурузы. Показано, что активность ингибиторов протеиназ (трипсин, химотрипсин, субтилизин) в растениях, выращенных на загрязненных радионуклидами участках, существенно снижалась в сравнении с контролем. У пшеницы и ржи активность этих ингибиторов была снижена на 15–60 % по сравнению с контролем [119]. Остается невыясненным, как реагируют на облучение другие защитные системы растения, как, например, синтез фитоалексинов или накопление PR-белков, не испытывают ли они торможения при действии на растения хронического облучения. Вместе с тем имеются основания считать, что снижение активности ингибиторов протеиназ, по-видимому, уменьшает устойчивость к болезням растений, подвергающихся действию ионизирующих излучений.

Еще одно доказательство того, что имеется связь между хроническим облучением, уровнем ингибиторов протеиназ в растениях и их устойчивостью к болезням, получено в опытах с высоколизиновой мутантной формой кукурузы, несущей ген *opaque-2* (W64A o2/o2), которая характеризуется пониженным содержанием ингибиторов протеиназ как в зерновках, так и листьях. Так, у мутантной формы кукурузы активность ингибиторов протеиназ в зернах была в 3–4 раза ниже, чем у необлученных расте-

ний, и в два раза меньше, чем у облученных растений исходной линии кукурузы (табл. 1). Очевидно, ораце-мутация кукурузы со сниженным уровнем ингибиторов протеиназ очень чувствительна к ионизирующей радиации и может быть полезным объектом в изучении влияния малых доз облучения на устойчивость растений к фитопатогенам.

Изменения вирулентности и агрессивности фитопатогенных грибов при хроническом облучении в зоне ЧАЭС может происходить одновременно с уменьшением устойчивости растений. Бурая ржавчина пшеницы и корончатая ржавчина овса, повсеместно распространенные в Украине, в последние годы даже без влияния облучения наносят ущерб урожаю зерновых до 10 %. Гены устойчивости пшеницы и ржи к ржавчине могут быть очень эффективны против некоторых рас, но не в состоянии полностью защитить растения от заражения другими расами патогена [120]. Вследствие наличия нескольких рас патогенных грибов могут возникать эпифитотии в тех случаях, когда появляются новые вирулентные расы ржавчины, которые наносят большой ущерб растениеводству до тех пор, пока не будет выведен новый сорт, устойчивый к данной агрессивной расе патогена.

Зараженность посевов одним из наиболее распространенных возбудителей ржавчины *Puccinia graminis* изучалась в Украине задолго до аварии на Чернобыльской АЭС (например, контроль этого заболевания проводили с 1966 г. в с. Манево Черкасской области вблизи Канева [121]). Полученные при этом данные были использованы в качестве контрольных значений зараженности растений и характеристик структуры популяции стеблевой ржавчины при исследовании поведения этого фитопатогена

в зоне ЧАЭС. Анализ пшеницы, ржи, ячменя, овса и ряда злаковых трав на опытных участках в 10-километровой зоне ЧАЭС выявил развитие стеблевой ржавчины на 12 сортах злаков. Степень развития болезни была очень высокой, достигая 50–85 % у всех исследованных растений. Все три основные формы *P. graminis* были способны развиваться на многих видах злаковых трав, которые выполняют функцию резервуара накопления инфекции для ее сохранения в период между вегетациями [122]. Выделено 642 монопустульных клона стеблевой ржавчины. Среди них выявлены восемь физиологических рас патогена (3, 11, 21, 34, 40, 100, 189), а также раса, условно названная «Х» [122], характеристика которой отсутствовала в Европейском кадастре рас. Все расы стеблевой ржавчины демонстрировали высокую вирулентность на основе их реакций в наборе 12 линий пшеницы с различными генами устойчивости к этому патогенному грибу.

Анализ патотипов *P. graminis* на моногенных линиях показал, что более вирулентные клоны встречаются с высокой частотой в популяции стеблевой ржавчины в зоне Чернобыльской АЭС. Высказано предположение, что активные формо- и расообразующие процессы при хроническом облучении имели место вследствие избытка инфекционного материала в зоне ЧАЭС. В итоге структура популяции *P. graminis* в зоне ЧАЭС изменилась, так как возникла «новая» популяция, отличающаяся высокой частотой встречаемости более вирулентных клонов.

Знания о том, как изменяются популяции фитопатогенов в зоне ЧАЭС на протяжении 30 лет после аварии, все время пополняются, и в настоящее время убедительно доказаны изменения в популяциях вредных организмов,

Таблица 1. Удельная активность ингибиторов протеиназ в зернах кукурузы

Образец	Трипсин		Химотрипсин		Субтилизин	
	мг/г белка	%	мг/г белка	%	мг/г белка	%
W64+/+, контроль	106	100	36	100	118	100
W64+/+, Чернобыльская зона	66	62	23	64	90	76
W64 o2/o2, контроль	129	100	20	100	130	100
W64 o2/o2, Чернобыльская зона	34	26	5	30	30	23

обитающих в ценозах зоны, загрязненной радионуклидами. Среди доказывающих справедливость этого утверждения фактов отметим выделение пяти новых физиологических рас возбудителя мучнистой росы пшеницы на сорте озимой пшеницы Киянка, выращиваемой в условиях хронического облучения при мощности дозы 180 мР/ч [123]. Две из этих рас обладают высокой вирулентностью, однако опасность от новой вирулентной расы X, новой для Европы, до сих пор не оценена. На другом сорте озимой пшеницы Полесская 70 обнаружены три новые расы мучнистой росы, которые не описаны в Европейском кадастре рас. Многие из недавно установленных эффектов хронического облучения аналогичны реакциям растений на системный стресс или иммунным ответам, для которых не существует простой связи между воздействием и эффектом, а потому не всегда прослеживается связь между эффектом и дозой действующего фактора. Все это усложняет составление прогнозов опасности от облучения для биологических объектов [124].

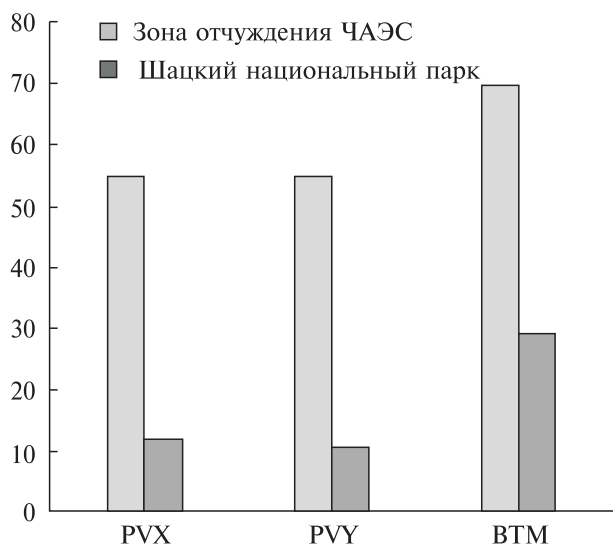
Пока слишком рано делать окончательные выводы о снижении болезнеустойчивости растений и повышении вирулентности фитопатогенных грибов при низких дозах хронического облучения [125]. Вместе с тем нет сомнений в том, что следует обеспечить особый тип мониторинга микроэволюционных процессов, происходящих в популяции растений и фитопатогенов при действии хронического облучения в экосистемах. Результаты такого мониторинга обеспечат более глубокое понимание того, насколько серьезны риски ускорения микроэволюции для биоты в загрязненных радионуклидами экосистемах.

Вирусные инфекции растений менее многочисленны, чем грибные патогены, но они также могут наносить весомый вред растениям, если трансформация окружающей среды облегчает вирусные инфекции. Показано, что ионизирующее излучение и загрязнение почвы тяжелыми металлами могут привести к значительным изменениям в проявлении симптомов, вызванных вирусной инфекцией, а также к повышению содержания вирусов в растениях, и, возможно, к возникновению мутаций в вирусных геномах [119, 124, 126]. Химиче-

ские стрессовые факторы, в том числе тяжелые металлы и радионуклиды, как известно, вызывают различные биологически значимые явления в процессах вирусного заболевания. Развитие вирусной инфекции при хроническом воздействии радиоактивности может сопровождаться нетипичными визуально обнаруживаемыми симптомами, усугублением клеточной патологии клеток и, предположительно, генетическими модификациями как вируса, так и его растения-хозяина [126, 127].

Особую озабоченность вызывают размеры популяции вирусных инфекций, так как имеются основания ожидать расширения распространения и разнообразия вирусов, что непосредственно относится к биологической безопасности. Серологическим методом доказано, что в зоне ЧАЭС распространено 10 вирусов дикорастущих растений (ВТМ, PVY, PVX, PVM, ПВС, ВФЛ, PLRV, ВУМV, АМV, ЦМВ). Показано также, что вирусные антигены чаще обнаруживаются в растениях, растущих на радиоактивно загрязненных территориях, чем у растений, обитающих в экологически безопасных местах, например в Шацком национальном парке (рис. 3) [128]. Этот эффект может явиться результатом повышения вирулентности вирусов, снижением устойчивости растений против вирусов, ослаблением приспособленности растений к условиям окружающей среды или же определяется комбинацией перечисленных факторов [129, 130].

Диапазон растений-хозяев вируса является одним из биологических свойств вирусного патогена. Биологические особенности изолятов вируса табачной мозаики (ВТМ), собранных в зоне ЧАЭС и Шацком национальном парке и обозначенных соответственно как TMVch и TMVsh, исследованы и сопоставлены со свойствами штамма ВТМ U1. Оказалось, что TMVch заметно отличается по диапазону своих хозяев и симптомам заболевания. В частности, он вызывает локальные некрозы у табака (*Nicotiana tabacum*) сорта Самсунг — растения, которое обычно системно реагирует на ВТМ-инфекцию, однако этот штамм оказался неспособным заразить тестовые растения *Nicotiana glutinosa* и *N. sylvestris* [131, 132]. В качестве основной причины из-



**Рис. 3.** Сравнение частот (по вертикали, %) распространения вирусов PVX, PVY и BTVM в растениях из регионов, отличающихся уровнем радиоактивного загрязнения (PVX – вирус картофеля X, PVY – вирус картофеля Y, BTVM – вирус табачной мозаики)

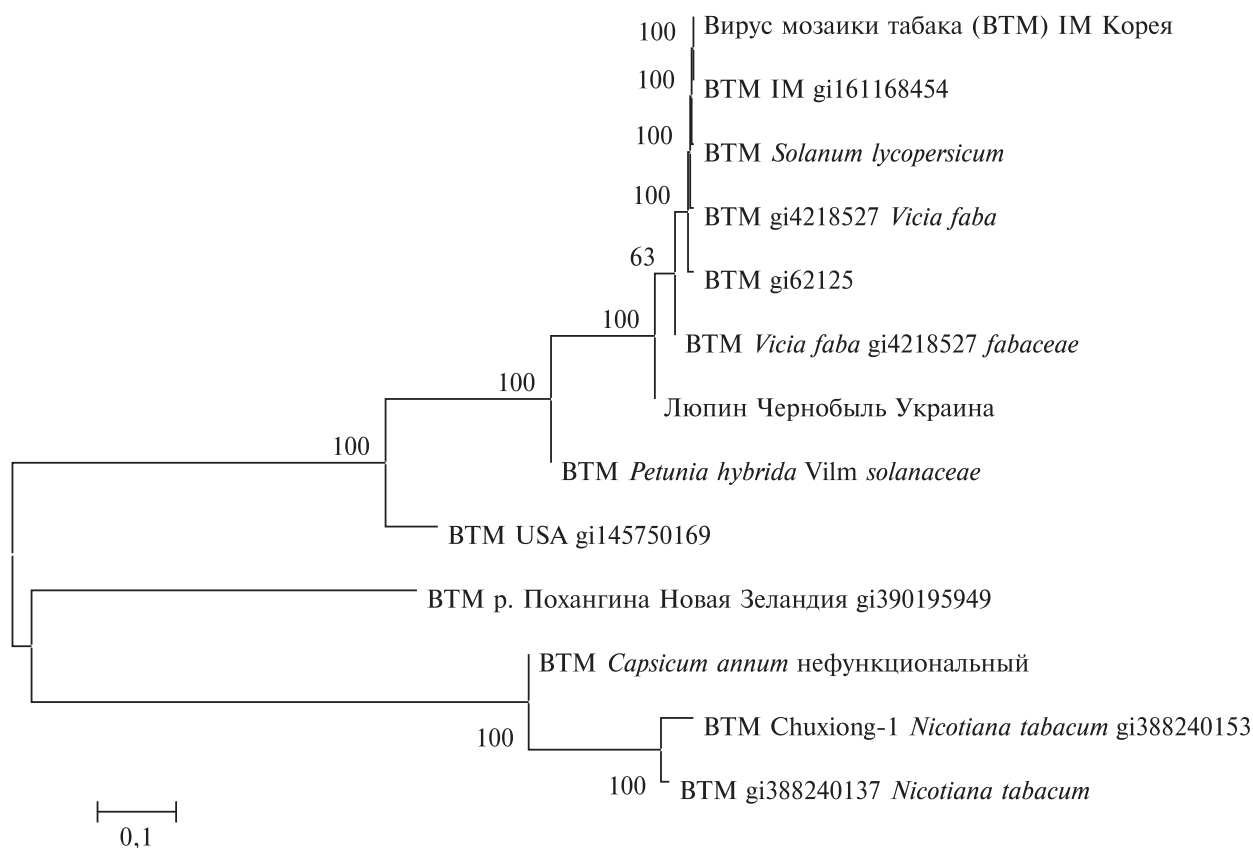
менений свойств вируса рассматриваются генетические модификации генома TMVch.

ELISA-анализ, проведенный с использованием гомологичной и гетерологичной специфической антисыворотки, показал, что очищенные белки оболочки TMVch, TMVsh и BTVM U1 серологически идентичны. Полученные с помощью жидкостной хроматографии высокого давления трипсиновые фрагменты белков оболочки TMVch и TMVsh изолятов не выявили каких-либо существенных различий в профилях их элюирования. Тем не менее оказалось, что эти фрагменты серологически различны, что предположительно обусловлено аминокислотными заменами в антигенных детерминантах изолятов вируса. В частности, несколько фракций белка оболочки изолята TMVch, полученного из зоны ЧАЭС, имели более сильное сродство к антисыворотке по сравнению с соответствующими фракциями белка из TMVsh и BTVM U1, что может указывать на изменение аминокислотного состава молекулы белка либо его трехмерной пространственной структуры. Во всяком случае такие изменения молекулы белка оболочки означают появление нового эпитопа [133].

Благодаря генетическому анализу вирусных изолятов из растений люпина, растущего в 30-километровой зоне ЧАЭС, обнаружен новый штамм BTVM. Поскольку люпин ранее не был известен как растение-хозяин для BTVM, можно предположить, что изменения в свойствах «классической» BTVM обусловлены мутационным эффектом хронического облучения. Полимеразу, оболочку и нуклеотидную последовательность определенного гена черныбыльского изолята сравнивали с соответствующими параметрами BTVM, охарактеризованными для выборки изолятов из разных географических регионов и растений-хозяев, которые приведены в базе данных Genbank. Филогенетическое сравнение всех трех секвенированных генов изолята BTVM из люпина показало их гомологию с генами, выделенными из нетипичных растений-хозяев, принадлежащих к семействам *Balsaminaceae* и *Oleaceae*. Изолят BTVM из люпина по своим признакам наиболее близок к штамму IM BTVM, выделенному из недотроги (*Impatiens sp.*), и штамму SXFQ (рис. 4). Приведенные факты указывают на возможное дивергентное расхождение этих штаммов от общего предка или, напротив, конвергентное схождение указанных форм в результате возникновения аналогичных мутаций в разных филогенетических линиях вируса [134]. Рассчитано, что ориентировочное значение времени дивергенции этих трех штаммов BTVM (люпин, IM и SXFQ) от общей родительской формы составило 50–100 лет. Эти данные исключают предположение о том, что хроническое облучение, которое началось только 30 лет назад, стало причиной дивергентного происхождения вируса люпинового BTVM. Тем не менее статистическая достоверность результатов (использовали программу BEAST 2) лежит в пределах 50 лет, указывая на то, что полный анализ генома BTVM изолята люпина имеет большое значение для получения уверенного ответа на вопрос о роли радиоактивного загрязнения в микроэволюции вирусов.

#### Чернобыль и микроэволюция

Реакция клеток и многоклеточных систем на действие ионизирующей радиации характеризуется развитием двух параллельных про-



**Рис. 4.** Филогенетический анализ ВТМ изолята из люпина на основе частичной последовательности RDRP (ME метод, 1000 бутстраповских репликаций)

цессов. Первый из них связан с повреждением определенных ультраструктур клетки, второй отражает активный ответ клетки на восприятие излучения как сигнала тревоги.

Первый тип реакций связан с повреждением молекулярных мишеней, наиболее важными из которых являются хроматин клеточного ядра, митохондриальная ДНК, клеточные мембраны и молекулярные ансамбли, осуществляющие функции молекулярных машин. Этот тип реакций был тщательно изучен, как и эффекты, возникающие в результате повреждения молекулярных мишеней. Вторая форма ответа на облучение представляет собой активную комплексную реакцию клеток, вызванную восприятием радиации как сигнала цитогенетической угрозы. Этот тип реакции организма на облучение исследован менее обстоятельно. Оба типа реакций клеток и многоклеточных организмов на облучение приведены на рис. 5.

Эффекты, сопровождающие повреждение мишеней, проявляются появлением хромосомных aberrаций, точечных мутаций, повреждением функций клеточных мембран, ингибированием биосинтеза белков и других веществ, искажением биоэнергетических процессов. Проявления этих форм радиационных повреждений, в частности, одноцепочечных и двухцепочечных разрывов ДНК и других повреждений этой макромолекулы, могут быть устранены посредством ряда механизмов репарации. Репарация мембран происходит за счет ускорения мембранных потоков и увеличения интенсивности синтеза липидов. Репарация «молекулярных машин» обеспечивается за счет процессов самосборки с использованием синтезируемых *de novo* белковых компонентов надмолекулярных структур. Очевидно, различия в радиорезистентности различных видов обусловлены как степенью радиационного повреждения мишеней, так и их способностью вос-



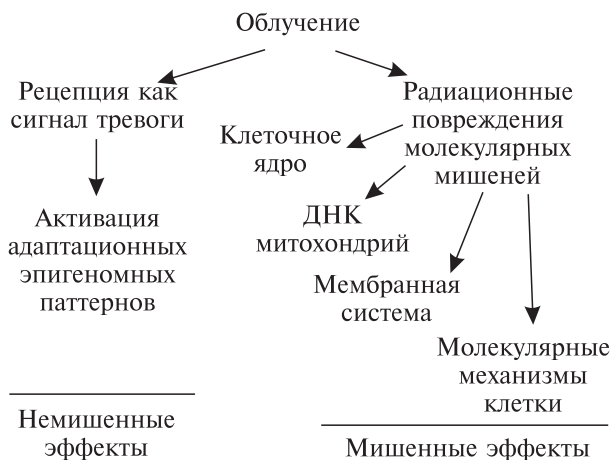


Рис. 5. Два типа реакций растения на действие ионизирующего излучения

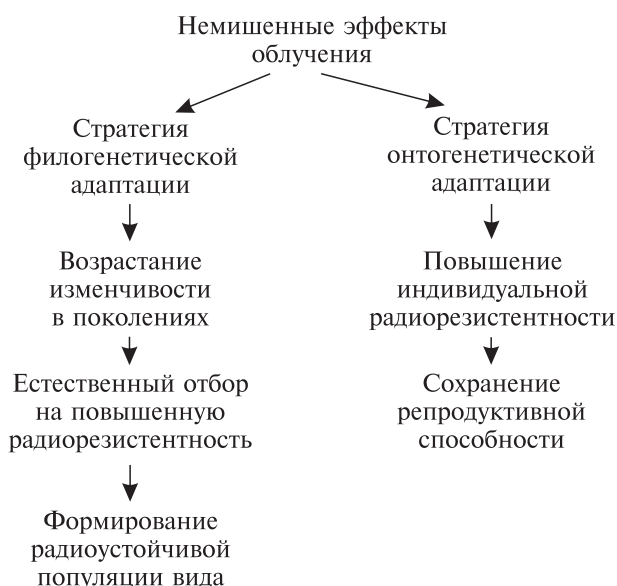


Рис. 6. Две стратегии адаптации видов к хроническому облучению в условиях радионуклидных аномалий

становивать различные типы повреждений мишеней.

Немишенные эффекты имеют совершенно иной характер по сравнению с мишенными реакциями клеток и многоклеточных организмов. Появление индивидуально поврежденных молекул в облученных клетках воспринимается ими как сигнал цитогенетической угрозы со стороны окружающей среды. Клетки активно реагируют на этот сигнал, и многообразные

сложные процессы, целью которых является снижение риска для видов от негативного воздействия излучения, инициируются в клетках и многоклеточных системах.

Активная реакция клеток и многоклеточных систем на облучение проявляется главным образом в формировании двух стратегий адаптации к повышенным уровням радиации как к вредному стрессовому фактору. Одна стратегия заключается в повышении индивидуальной радиационной устойчивости. Этот эффект называют онтогенетической радиоадаптацией. Существенным моментом радиоадаптации является тот факт, что повышение радиоустойчивости клетки или многоклеточного организма достигается посредством активации различных процессов, включая синтез ферментов репарации ДНК, увеличение концентрации антиоксидантов и других веществ, которые совместно образуют природный фон радиорезистентности. В дополнение к этим биохимическим механизмам радиоустойчивости радиоадаптация может включать в себя регуляторные процессы, которые растягивают пресинтетическую фазу клеточного цикла, тем самым улучшая условия репарации ДНК. В результате возрастает шанс восстановления поврежденной радиацией ДНК, а также становится более эффективной репопуляция и клеточная селекция как способ уменьшения генетического груза в клетках организма.

Осуществляется и другая, принципиально иная стратегия адаптации организмов к повышенному радиационному фону, называемая филогенетической адаптацией. Цель этой стратегии состоит в том, чтобы увеличить генетическое и эпигенетическое разнообразие видовых популяций, что необходимо для обеспечения богатого материала для естественного отбора на повышение радиорезистентности видов. Схема, иллюстрирующая обе стратегии адаптации в популяциях, показана на рис. 6.

Соотношение между этими двумя стратегиями адаптации организма к радиации существенно зависит от дозы и способа облучения. Первая стратегия адаптации, связанная с репарацией лучевых повреждений молекулярных мишеней в клетках, характерна для более высоких доз и острого воздействия радиации. Вторая стратегия адаптации преобла-

дает при низких дозах ионизирующей радиации и хроническом ее воздействии.

Многие радиобиологические реакции в основе своего проявления имеют механизмы, участвующие в регуляции генетической и эпигенетической изменчивости. Например, индукция нестабильности генома и проявление эффектов свидетеля опосредованы механизмами, которые представляют собой реакцию организма на облучение.

Тот факт, что варьирование морфологических признаков в популяции у особей, подвергшихся воздействию радиации в малых дозах, значительно возрастает, можно увидеть в результатах различных экспериментов по значению дисперсии (стандартное отклонение) количественных признаков. Увеличение биологического разнообразия наблюдается на разных уровнях организации организма. У растений повышение изменчивости можно наблюдать в размерах всего растения, его отдельных органов или клеток в определенной ткани.

Следует отметить, что увеличение изменчивости размеров клеток апикальной меристемы не зависит от дозы облучения. По-видимому, это может быть связано с регуляторной природой этого явления. Коэффициент варьирования размеров растений зверобоя (*Hyperacid perforate*), произрастающих в зоне отчуждения ЧАЭС, выше, чем в популяции этого вида в незагрязненной радионуклидами территории [135]:

Уровень радионуклидного загрязнения, Ки/км <sup>2</sup>	Коэффициент варьирования, %
0 (контроль)	28
5	36
50	37
600	43

В зоне радиоактивного загрязнения коэффициенты варьирования роста и репродуктивных процессов у сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) резко возросли [136].

Существуют различные механизмы, в результате действия которых может возрасти генетическое и эпигенетическое разнообразие растений. Среди них следующие механизмы играют особо важную роль:

- увеличение частот рекомбинаций в мейозе

(этот процесс ускоряется под воздействием низких доз радиации);

- повышение активности транспозонов (эффект влияния облучения на этот процесс подтвержден [137]);
- нарушение репарации ДНК (показано на пыльце березы, растущей на территории, которая загрязнена радионуклидами [106]);
- снижение роли партенокарпического размножения (эффект облучения в малых дозах на увеличение частоты полового размножения показан на ряде организмов [138]);
- радиационная индукция геномной нестабильности [139].

Можно видеть, что все механизмы, приводящие к увеличению генетического разнообразия в популяциях, активируются под влиянием облучения. Следует отметить, что воздействие радиации на механизмы, обеспечивающие повышение гетерозиготности, выражено очень четко. Это можно видеть из данных табл. 2, которая демонстрирует взаимосвязь между количеством растений, размножающихся половым или апомиктическим путем, на территориях, в разной степени загрязненных радионуклидами [135].

Как видно, у способных к апомиктическому размножению растений возросла частота полового воспроизведения при увеличении мощности дозы хронического облучения [135]. Аналогичное явление обнаружено и у некоторых

Таблица 2. Частота встречаемости зверобоя (*Hypericum perforatum*), размножающегося половым (2n) или апомиктическим (4n) путем в зоне отчуждения Чернобыльской АЭС

Место сбора растений	Количество растений разного происхождения, %	
	полового	апомиктического
Контроль	41,1	58,9
Чернобыль (низкий уровень облучения – 50–120 мкР/ч)	81,2	18,8
с. Чистоголовка (высокий уровень облучения – 500–2600 мкР/ч)	95,0	5,0

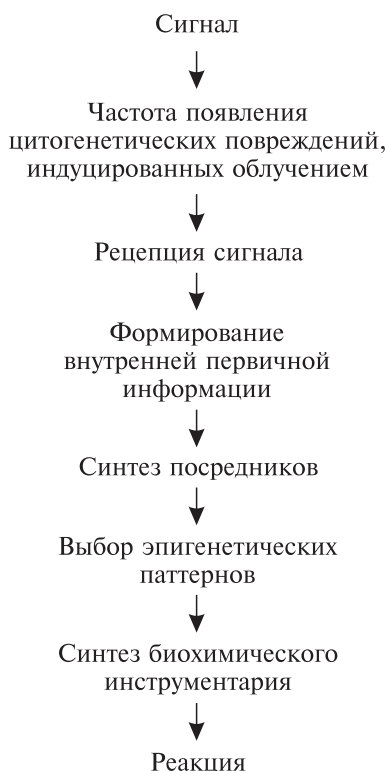


Рис. 7. Формирование ответа на облучение с помощью сигнальной системы

полихет, в которых увеличение роли полового и ослабление роли вегетативного размножения наблюдаются при увеличении дозы, накапливаемой при хроническом облучении. Интересно отметить, что коэффициенты вариации количественных значений морфологических признаков значительно выше при половом, чем при вегетативном размножении. Это видно из данных, приведенных в табл. 3.

Как оказалось, у растений соотношение между особями с гермафродитными и однополыми цветками под влиянием хронического облучения изменяется таким образом, что ге-

терозиготность в поколении должна возрастать. Эффекты хронического облучения охватывают различные генетические события от рекомбинационных изменений генома до появления мутаций.

Растения мобилизуют все возможные пути, ведущие к увеличению гетерозиготности. Активный ответ на сигнал тревоги осуществляется через участие эпигенетических явлений. Это заключение находит подтверждение в результатах экспериментов, в которых зафиксировано значительное изменение в профилях метилирования цитозина в ДНК растений, испытавших действие гамма-радиации или ультрафиолетовых лучей. На рис. 7 показана общая схема передачи сигналов, индуцирующих формирование биологической реакции на облучение.

Соответственно хроническое облучение при низкой мощности дозы воспринимается организмом как абиотический стресс. Онтогенетическая и филогенетическая адаптационные стратегии проявляются как ответ организма и популяции на этот стресс. Онтогенетическая стратегия адаптации осуществляется путем активации генов, контролирующих репарации ДНК и ускоряющих мембранные потоки, синтез липидов, белков, антиоксидантов, а также репопуляционные перестройки в меристемах. Филогенетическая стратегия адаптации проявляется в процессах, которые приводят к увеличению фенотипического разнообразия особей в популяциях, что повышает эффективность естественного отбора для повышения радиорезистентности видов. Фенотипический полиморфизм популяции также увеличивается за счет эпигенетических механизмов, которые приводят к появлению псевдомутаций.

Приведенные данные убедительно показывают, что в условиях хронического действия ионизирующей радиации при низкой мощ-

Таблица 3. Коэффициенты вариации морфологических особенностей растений различного происхождения на разных уровнях радионуклидного загрязнения почвы, %

Происхождение растений	Уровень радионуклидного загрязнения, кБк/м <sup>2</sup>			
	1,85·10 <sup>1</sup>	1,85·10 <sup>2</sup>	1,85·10 <sup>3</sup>	2,22·10 <sup>4</sup>
Половое размножение	34	38	37	42
Апомиктическое размножение	7	8	10	8

ности дозы изменяется структура популяции, в которой появляются генетически модифицированные формы и эпигенетические псевдомутации. Иными словами в результате ряда вызванных хроническим облучением процессов в экосистемах, загрязненных радионуклидами, ускоряется микроэволюция.

Ускорение темпов микроэволюции в горячих точках может быть очень опасным явлением для биоты. В самом деле, появление в фитоценозах мутантных форм организмов может нарушить межвидовой баланс в экосистемах и привести к оскудению установившегося ранее биоразнообразия. Поскольку межпопуляционный гомеостаз в биосообществах связан с коэволюцией многих видов, в частности в системах «паразит – хозяин», измененная скорость эволюции может нарушить равновесие биоты в экосистемах не только в горячих точках, но и в прилегающих к ним территориях, на которые могут мигрировать мутировавшие особи.

События, составляющие основу микроэволюции, несомненно, активируются при радионуклидном загрязнении среды обитания. Поскольку популяции некоторых видов состоят из относительно небольшого числа особей в экосистемах горячих точек, вероятность генетического дрейфа увеличивается за счет снижения уровня выживаемости некоторых видов и притока мигрантов из территорий, прилегающих к антропогенной радионуклидной аномалии [140, 141]. Этот процесс сопровождается увеличением интенсивности потока генов. Естественно, в настоящее время повышенная скорость микроэволюционных процессов может быть выявлена только у тех видов, которые характеризуются короткими периодами жизненного цикла, так что многие их поколения жили, подвергаясь хроническому облучению. Выше были приведены примеры стеблевой ржавчины злаков – гриба *Puccinia graminis* Pers. и мучнистой росы *Erysiphe* sp., которые распространились на растениях зоны отчуждения ЧАЭС в связи с появлением новых высоковирулентных рас [119]. Результаты, полученные в Чернобыльской зоне отчуждения как в теплице, так и в полевых испытаниях, демонстрируют снижение устойчивости к болезням разных сортов пшеницы, ржи и куку-

рузы при хроническом облучении, обусловленном радионуклидным загрязнением среды. Семена растений, выращенных в условиях хронического облучения, обычно отличаются пониженной способностью защищаться от фитопатогенов и сильно повреждаются разными грибами. Горячие точки постепенно становятся очагом новых вирулентных форм патогенных микроорганизмов.

Повышенные риски для биоты, обусловленные увеличением темпов микроэволюционных процессов в антропогенных радионуклидных аномалиях, могут привести к появлению редких мутаций, возрастанию генетического и эпигенетического полиморфизма популяций и утрате состояния равновесия видов в экосистемах. Очевидно, в качестве полезной меры безопасности необходимо проводить соответствующий мониторинг процессов микроэволюции в горячих точках нашей планеты. В естественных радионуклидных аномалиях, связанных с урановыми месторождениями, диапазон отклонений в генетической изменчивости не столь значителен, как в условиях антропогенных радионуклидных аномалий. По-видимому, механизмы стабилизации изменчивости в популяциях растений эволюционировали в течение длительного периода времени.

#### LONG TERM EFFECTS OF CHERNOBYL CONTAMINATION ON DNA REPAIR FUNCTION AND PLANT RESISTANCE TO BIOTIC AND ABIOTIC STRESS FACTORS

I. Boubriak, T. Akimkina, V. Polischuk,  
A. Dmitriev, S. McCready, D. Grodzinsky

Dunn School of Pathology, Oxford University, UK  
E-mail: ivan.boubriak@path.ox.ac.uk  
Oxford Brookes University, Oxford, UK  
Pharmstore, Moscow, RF  
Department of Virology, Kyiv National University,  
Ukraine  
Institute of Cell Biology and Genetic Engineering,  
NAS of Ukraine, Kyiv  
E-mail: dmyt@voliacable.com

Thirty years after the Chernobyl explosion we still lack information regarding the genetic effects of radionuclide contamination on the plant population. For example, are plants adapting to the low dose of chronic ionising irradiation and showing improved resistance to radiation damage? Are they coping with changing/increased pathogenicity of fungi and viruses in the Chernobyl ex-

clusion zone? Are plant populations rapidly accumulating mutational load and should we expect rapid micro-evolutionary changes in plants in the Chernobyl area? This review will try to summarise the current knowledge on these aspects of plant genetics and ecology and draw conclusions on the importance of further studies in the area around Chernobyl.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Balonov, M., The Chernobyl accident as a source of new radiological knowledge: implications for Fukushima rehabilitation and research programmes, *J. Radiol. Prot.*, 2013, vol. 33, no. 1, pp. 27–40.
- Izrael, Y.A., De Cort, M., Jones, A.R., Nazarov, I.M., Fridman, S.D., Kvasnikova, E.V., Stukin, E.D., Kelly, G.N., Matveenkov, I.I., Pokumeiko, Y.M., The atlas of caesium-137 contamination of Europe after the Chernobyl accident. *Radiological Consequences of the Chernobyl Accident, Proceedings of the First International Conference (EUR 16544 EN)*, 1996, pp. 1–10.
- Bubryak, I., Vilensky, E., Naumenko, V., and Grodzisky, D., Influence of combined alpha, beta and gamma radionuclide contamination on the frequency of waxy-reversions in barley pollen, *Sci. Total Environ.*, 1992, vol. 112, no. 1, pp. 29–36.
- Hinton, T.G., Kopp, P., Ibrahim, S., Bubryak, I., Syomov, A., Tobler, L., and Bell, C., A comparison of techniques used to estimate the amount of resuspended soil on plant surfaces, *Health Phys.*, 1995, vol. 68, no. 4, pp. 523–531.
- Lepiniec, L., Babiychuk, E., Kushnir, S., Van Montagu, M., and Inze, D., Characterization of an *Arabidopsis thaliana* cDNA homologue to animal poly(ADP-ribose) polymerase, *FEBS Lett.*, 1995, vol. 364, no. 2, pp. 103–108.
- Hinton, T.G., Alexakhin, R., Balonov, M., Gentner, N., Hendry, J., Prister, B., Strand, P., and Woodhead, D., Radiation-induced effects on plants and animals: findings of the United Nations Chernobyl Forum, *Health Phys.*, 2007, vol. 93, no. 5, pp. 427–440.
- Sokolov, V.E., Rjabov, I.N., Ryabtsev, I.A., Tikhomirov, F.A., Shevchenko, V.A., and Taskaev, A.I., Ecological and genetic consequences of the Chernobyl atomic power-plant accident, *Vegetatio*, 1993, vol. 109, no. 1, pp. 91–99.
- Tikhomirov, F.A., and Shcheglov, A.I., Main investigation results on the forest radioecology in the Kyshtym and Chernobyl accident zones, *Sci. Total Environ.*, 1994, vol. 157, no. 1–3, pp. 45–57.
- Tikhomirov, F.A., and Shcheglov, A.I., The consequences of radioactive contamination of forest ecosystems due to Chernobyl accident, *Radiatsionnaya Biologiya Radioekologiya*, 1997, vol. 37, no. 4, pp. 664–672.
- Kalchenko, V.A., Arkhipov, N.P., and Fedotov, I.S., Mutagenesis of allozyme loci in *Pinus sylvestris* L. megaspores induced by ionizing irradiation after Chernobyl-NNP accident, *Genetika*, 1993, vol. 29, no. 2, pp. 266–273.
- Arkhipov, N.P., Kuchma, N.D., Askbrant, S., Pasternak, P.S., and Musica, V.V., Acute and long-term effects of irradiation on pine (*Pinus sylvestris*) stands post-Chernobyl, *Sci. Total Environ.*, 1994, vol. 157, no. 1–3, pp. 383–386.
- Paton, B.E., Baryakhtar, V.G., Prister, B.S., and Faybishenko, B.A., The Chernobyl catastrophe in Ukraine: Causes of the accident and lessons learned, *Environ. Sci. Poll. Res.*, 2003, vol. 3/12/2008, Spec. iss. 1.
- Esnault, M.-A., Legue, F., and Chenal, C., Ionizing radiation: Advances in plant response, *Environ. Exp. Bot.*, 2010, vol. 68, no. 3, pp. 231–237.
- Koyama, S., Kodama, S., Suzuki, K., Matsumoto, T., Miyazaki, T., and Watanabe, M., Radiation-induced long-lived radicals which cause mutation and transformation, *Mutat. Res.*, 1998, vol. 421, no. 1, pp. 45–54.
- Roldan-Arjona, T., and Ariza, R.R., Repair and tolerance of oxidative DNA damage in plants, *Mutat. Res.*, 2009, vol. 681, no. 2–3, pp. 169–179.
- Gill, S.S., Anjum, N.A., Gill, R., Jha, M., and Tuteja, N., DNA damage and repair in plants under ultraviolet and ionizing radiations, *Sci. World J.*, 2015, vol. 2015, Article ID 250158, 11 p.
- Gill, S.S., and Tuteja, N., Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants, *Plant Physiol. Biochem.*, 2010, vol. 48, no. 12, pp. 909–930.
- Hefner, E., Preuss, S.B., and Britt, A.B., Arabidopsis mutants sensitive to gamma radiation include the homologue of the human repair gene ERCC1, *J. Exp. Bot.*, 2003, vol. 54, no. 383, pp. 669–680.
- Preuss, S.B., and Britt, A.B., A DNA-damage-induced cell cycle checkpoint in Arabidopsis, *Genetics*, 2003, vol. 164, no. 1, pp. 323–334.
- Jiang, C.Z., Yee, J., Mitchell, D.L., and Britt, A.B., Photorepair mutants of Arabidopsis, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1997, vol. 94, no. 14, pp. 7441–7445.
- Fidantsef, A.L., Mitchell, D.L., and Britt, A.B., The Arabidopsis UVH1 gene is a homolog of the yeast repair endonuclease RAD1, *Plant Physiol.*, 2000, vol. 124, no. 2, pp. 579–586.
- Gicquel, M., Esnault, M.-A., Jorin-Novo, J.V., and Cabello-Hurtado, F., Application of proteomics to the assessment of the response to ionising radiation in *Arabidopsis thaliana*, *J. Proteomics*, 2011, vol. 74, no. 8, pp. 1364–1377.
- Roldan-Arjona, T., Garcia-Ortiz, M.V., Ruiz-Rubio, M., and Ariza, R.R., cDNA cloning, expression and functional characterization of an *Arabidopsis thaliana* homologue of the *Escherichia coli* DNA re-

- pair enzyme endonuclease II, *Plant Mol. Biol.*, 2000, vol. 44, no. 1, pp. 43–52.
24. Ramiro-Merina, A., Ariza, R.R., and Roldan-Arjona, T., Molecular characterization of a putative plant homolog of MBD4 DNA glycosylase, *DNA Rep. (Amst)*, 2013, vol. 12, no. 11, pp. 890–898.
  25. Garcia-Ortiz, M.V., Ariza, R.R., and Roldan-Arjona, T., An OGG1 orthologue encoding a functional 8-oxoguanine DNA glycosylase/lyase in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Mol. Biol.*, 2001, vol. 47, no. 6, pp. 795–804.
  26. Ohtsubo, T., Matsuda, O., Iba, K., Terashima, I., Sekiguchi, M., and Nakabeppu, Y., Molecular cloning of AtMMH, an *Arabidopsis thaliana* ortholog of the *Escherichia coli* mutM gene, and analysis of functional domains of its product, *Mol. Gen. Genet.*, 1998, vol. 259, no. 6, pp. 577–590.
  27. Takeuchi, R., Kimura, S., Saotome, A., and Sakaguchi, K., Biochemical properties of a plastidial DNA polymerase of rice, *Plant Mol. Biol.*, 2007, vol. 64, no. 5, pp. 601–611.
  28. Uchiyama, Y., Takeuchi, R., Kodera, H., and Sakaguchi, K., Evolution and functions of X-family DNA polymerases in eukaryotes, *Seikagaku, J. Japan. Biochem. Soc.*, 2008, vol. 80, no. 7, pp. 646–651.
  29. Taylor, R.M., Hame, M.J., Rosamond, J., and Bray, C.M., Molecular cloning and functional analysis of the *Arabidopsis thaliana* DNA ligase I homologue, *Plant J.*, 1998, vol. 14, no. 1, pp. 75–81.
  30. Waterworth, W.M., Kozak, J., Provost, C.M., Bray, C.M., Angelis, K.J., and West, C.E., DNA ligase I deficient plants display severe growth defects and delayed repair of both DNA single and double strand breaks, *BMC Plant Biol.*, 2009, vol. 9, p. 79.
  31. Slupphaug, G., Kavli, B., and Krokan, H.E., The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage, *Mutat. Res.*, 2003, vol. 531, no. 1–2, pp. 231–251.
  32. Furukawa, T., Curtis, M.J., Tominey, C.M., Duong, Y.H., Wilcox, B.W., Aggoune, D., Hays, J.B., and Britt, A.B., A shared DNA-damage-response pathway for induction of stem-cell death by UVB and by gamma irradiation, *DNA Rep. (Amst)*, 2010, vol. 9, no. 9, pp. 940–948.
  33. Jenkins, M.E., Harlow, G.R., Liu, Z., Shotwell, M.A., Ma, J., and Mount, D.W., Radiation-sensitive mutants of *Arabidopsis thaliana*, *Genetics*, 1995, vol. 140, no. 2, pp. 725–732.
  34. Liu, Z., Hall, J.D., and Mount, D.W., Arabidopsis UVH3 gene is a homolog of the *Saccharomyces cerevisiae* RAD2 and human XPG DNA repair genes, *Plant J.*, 2001, vol. 26, no. 3, pp. 329–338.
  35. Liu, Z., Hossain, G.H., Islas-Osuna, M.A., Mitchell, D.L., and Mount, D.W., Repair of UV damage in plants by nucleotide excision repair: Arabidopsis UVH1 DNA repair gene is a homolog of *Saccharomyces cerevisiae* Rad1, *Plant J.*, 2000, vol. 21, no. 6, pp. 519–528.
  36. Babiychuk, E., Cottrill, P.B., Storozhenko, S., Fuangthong, M., Chen, Y., O'Farrell, M.K., Van Montagu, M., Inze, D., and Kushnir, S., Higher plants possess two structurally different poly(ADP-ribose) polymerases, *Plant J.*, 1998, vol. 15, no. 5, pp. 635–645.
  37. Doucet-Chabeaud, G., Godon, C., Brutesco, C., de Murcia, G., and Kazmaier, M., Ionising radiation induces the expression of PARP-1 and PARP-2 genes in Arabidopsis, *Mol. Genet. Genom.*, 2001, vol. 265, no. 6, pp. 954–963.
  38. Amor, Y., Babiychuk, E., Inze, D., and Levine, A., The involvement of poly(ADP-ribose) polymerase in the oxidative stress responses in plants, *FEBS Lett.*, 1998, vol. 440, no. 1–2, pp. 1–7.
  39. Petrucco, S., Volpi, G., Bolchi, A., Rivetti, C., and Ottonello, S., A nick-sensing DNA 3'-repair enzyme from Arabidopsis, *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, no. 26, pp. 23675–23683.
  40. Petrucco, S., and Percudani, R., Structural recognition of DNA by poly(ADP-ribose)polymerase-like zinc finger families, *FEBS J.*, 2008, vol. 275, no. 5, pp. 883–893.
  41. Garcia-Ortiz, M.V., Ariza, R.R., Hoffman, P.D., Hays, J.B., and Roldan-Arjona, T., *Arabidopsis thaliana* AtPOLK encodes a DinB-like DNA polymerase that extends mispaired primer termini and is highly expressed in a variety of tissues, *Plant J.*, 2004, vol. 39, no. 1, pp. 84–97.
  42. Garcia-Ortiz, M.V., Roldan-Arjona, T., Ariza, R.R., The noncatalytic C-terminus of AtPOLK Y-family DNA polymerase affects synthesis fidelity, mismatch extension and translesion replication, *FEBS J.*, 2007, vol. 274, no. 13, pp. 3340–3350.
  43. Culligan, K.M., and Hays, J.B., DNA mismatch repair in plants – An *Arabidopsis thaliana* gene that predicts a protein belonging to the MSH2 subfamily of eukaryotic MutS homologs, *Plant Physiol.*, 1997, vol. 115, no. 2, pp. 833–839.
  44. Wu, S.Y., Culligan, K., Lamer, M., and Hays, J., Dissimilar mispair-recognition spectra of Arabidopsis DNA-mismatch-repair proteins MSH2.MSH6 (MutS alpha) and MSH2.MSH7 (MutS gamma), *Nucleic Acids Res.*, 2003, vol. 31, no. 20, pp. 6027–6034.
  45. Puchta, H., Breaking DNA in plants: how I almost missed my personal breakthrough, *Plant Biotechnol. J.*, 2016, vol. 14, no. 2, pp. 437–440.
  46. Roth, N., Klimesch, J., Dukowic-Schulze, S., Pachter, M., Mannuss, A., and Puchta, H., The requirement for recombination factors differs considerably between different pathways of homologous double-strand break repair in somatic plant cells, *Plant J.*, 2012, vol. 72, no. 5, pp. 781–790.
  47. White, C.I., da Ines, O., Serra, H., Degroote, F., Ol-

- ivier, M., Goubely, C., Amiard, S., and Gallego, M.E., Recombination and the roles of the RAD51-like proteins in Arabidopsis, *FEBS J.*, 2014, vol. 281, pp. 722–723.
48. Charbonnel, C., Allain, E., Gallego, M.E., and White, C.I., Kinetic analysis of DNA double-strand break repair pathways in Arabidopsis, *DNA Rep. (Amst)*, 2011, vol. 10, no. 6, pp. 611–619.
  49. Block-Schmidt, A.S., Dukowic-Schulze, S., Waniecek, K., Reidt, W., and Puchta, H., BRCC36A is epistatic to BRCA1 in DNA crosslink repair and homologous recombination in *Arabidopsis thaliana*, *Nucleic Acids Res.*, 2011, vol. 39, no. 1, pp. 146–154.
  50. Reidt, W., Wurz, R., Waniecek, K., Chu, H.H., and Puchta, H., A homologue of the breast cancer-associated gene BARD1 is involved in DNA repair in plants, *EMBO J.*, 2006, vol. 25, no. 18, pp. 4326–4337.
  51. Waterworth, W.M., Bray, C.M., and West, C.E., The importance of safeguarding genome integrity in germination and seed longevity, *J. Exp. Bot.*, 2015, vol. 66, no. 12, pp. 3549–3558.
  52. Kobbe, D., Blanck, S., Demand, K., Focke, M., and Puchta, H., AtRECQ2, a RecQ helicase homologue from *Arabidopsis thaliana*, is able to disrupt various recombinogenic DNA structures in vitro, *Plant J.*, 2008, vol. 55, no. 3, pp. 397–405.
  53. Kobbe, D., Focke, M., and Puchta, H., Purification and characterization of RecQ helicases of plants, *Methods Mol. Biol.*, 2010, vol. 587, pp. 195–209.
  54. Aklilu, B.B., and Culligan, K.M., Molecular evolution and functional diversification of replication protein A1 in plant, *Front. Plant Sci.*, 2016, vol. 7, p. 33.
  55. Bleuyard, J.Y., Gallego, M.E., Savigny, F., and White, C.I., Differing requirements for the Arabidopsis Rad51 paralogs in meiosis and DNA repair, *Plant J.*, 2005, vol. 41, no. 4, pp. 533–545.
  56. Da Ines, O., Degroote, F., Goubely, C., Amiard, S., Gallego, M.E., and White, C.I., Meiotic recombination in Arabidopsis is catalysed by DMC1, with RAD51 playing a supporting role, *PLoS Genet.*, 2013, vol. 9, no. 9, e1003787.
  57. Mannuss, A., Trapp, O., and Puchta, H., Gene regulation in response to DNA damage, *Biochim. Biophys. Acta*, 2012, vol. 1819, no. 2, pp. 154–165.
  58. Boyko, A., Filkowski, J., and Kovalchuk, I., Homologous recombination in plants is temperature and day-length dependent, *Mutat. Res.*, 2005, vol. 572, no. 1–2, pp. 73–83.
  59. Boyko, A., Filkowski, J., Hudson, D., and Kovalchuk, I., Homologous recombination in plants is organ specific, *Mutat. Res.*, 2006, vol. 595, no. 1–2, pp. 145–155.
  60. West, C.E., Waterworth, W.M., Story, G.W., Sunderland, P.A., Jiang, Q., and Bray, C.M., Disruption of the Arabidopsis AtKu80 gene demonstrates an essential role for AtKu80 protein in efficient repair of DNA double-strand breaks in vivo, *Plant J.*, 2002, vol. 31, no. 4, pp. 517–528.
  61. Tamura, K., Adachi, Y., Chiba, K., Oguchi, K., Takahashi, H., Identification of Ku70 and Ku80 homologues in *Arabidopsis thaliana*: evidence for a role in the repair of DNA double-strand breaks, *Plant J.*, 2002, vol. 29, no. 6, pp. 771–781.
  62. West, C.E., Waterworth, W.M., Jiang, Q., and Bray, C.M., Arabidopsis DNA ligase IV is induced by gamma-irradiation and interacts with an Arabidopsis homologue of the double strand break repair protein XRCC4, *Plant J.*, 2000, vol. 24, no. 1, pp. 67–78.
  63. Daoudal-Cotterell, S., Gallego, M.E., and White, C.I., The plant Rad50-Mre11 protein complex, *FEBS Lett.*, 2002, vol. 516, no. 1–3, pp. 164–166.
  64. Bray, C.M., Sunderland, P.A., Waterworth, W.M., and West, C.E., DNA ligase – a means to an end joining, *SEB Exp. Biol. Ser.*, 2008, vol. 59, pp. 203–217.
  65. Perez, R., Cuadrado, A., Chen, I.P., Puchta, H., Jouve, N., De Bustos, A., The Rad50 genes of diploid and polyploid wheat species. Analysis of homologue and homoeologue expression and interactions with Mre11, *Theor. Appl. Genet.*, 2011, vol. 122, no. 2, pp. 251–262.
  66. Culligan, K.M., Robertson, C.E., Foreman, J., Doerner, P., and Britt, A.B., ATR and ATM play both distinct and additive roles in response to ionizing radiation, *Plant J.*, 2006, vol. 48, no. 6, pp. 947–961.
  67. Culligan, K., Tissier, A., and Britt, A., ATR regulates a G2-phase cell-cycle checkpoint in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell*, 2004, vol. 16, no. 5, pp. 1091–1104.
  68. Yoshiyama, K., Conklin, P.A., Huefner, N.D., and Britt, A.B., Suppressor of gamma response 1 (SOG1) encodes a putative transcription factor governing multiple responses to DNA damage, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2009, vol. 106, no. 31, pp. 12843–12848.
  69. Yoshiyama, K.O., Kimura, S., Maki, H., Britt, A.B., and Umeda, M., The role of SOG1, a plant-specific transcriptional regulator, in the DNA damage response, *Plant Signal. Behav.*, 2014, vol. 9, no. 4, e28889.
  70. Yoshiyama K., Britt A., Maki H., and Umeda, M., DNA damage checkpoint in response to ionizing radiation in plants. *Genes Genet. Syst.* 2010, vol. 85, no. 6, p. 444.
  71. McCready, S., Muller, J.A., Boubriak, I., Berquist, B.R., Ng, W.L., and DasSarma, S., UV irradiation induces homologous recombination genes in the model archaeon, *Halobacterium* sp. NRC-1, *Saline Syst.*, 2005, vol. 1, doi:10.1186/1746-1448-1-3.
  72. Serra, H., Da Ines, O., Degroote, F., Gallego, M.E., and White, C.I., Roles of XRCC2, RAD51B and RAD51D in RAD51-independent SSA recombination, *PLoS Genet.*, 2013, vol. 9, no. 11, e1003971.
  73. Mannuss, A., Dukowic-Schulze, S., Suer, S., Har-

- tung, F., Pacher, M., and Puchta, H., RAD5A, RECQ4A, and MUS81 have specific functions in homologous recombination and define different pathways of DNA repair in *Arabidopsis thaliana*, *Plant Cell*, 2010, vol. 22, no. 10, pp. 3318–3330.
74. Dona, M., Ventura, L., Macovei, A., Confalonieri, M., Savio, M., Giovannini, A., Carbonera, D., and Balestrazzi, A., Gamma irradiation with different dose rates induces different DNA damage responses in *Petunia × hybrida* cells, *J. Plant Physiol.*, 2013, vol. 170, no. 8, pp. 780–787.
  75. Kovalchuk, I., Molinier, J., Yao, Y., Arkhipov, A., and Kovalchuk, O., Transcriptome analysis reveals fundamental differences in plant response to acute and chronic exposure to ionizing radiation, *Mutat. Res.*, 2007, vol. 624, no. 1–2, pp. 101–113.
  76. Willey, N.J., Heinekamp, Y.J., and Burrige, A., Genomic and proteomic analyses of plant response to radiation in the environment – an abiotic stress context, *Radioprotection*, 2009, vol. 44, no. 5, pp. 887–890.
  77. Marples, B., Is low-dose hyper-radiosensitivity a measure of G2-phase cell radiosensitivity? *Cancer Metastasis Rev.*, 2004, vol. 23, no. 3–4, pp. 197–207.
  78. Martin, L.M., Marples, B., Lynch, T.H., Hollywood, D., and Marignol, L., Exposure to low dose ionising radiation: Molecular and clinical consequences. *Cancer Lett.*, 2013, vol. 348, no. 2, pp. 209–218.
  79. Macovei, A., and Tuteja, N., Different expression of miRNAs targeting helicases in rice in response to low and high dose rate gamma-ray treatment, *Plant Signal. Behav.*, 2013, vol. 8, no. 8, e25128.
  80. Kathiria, P., and Kovalchuk, I., Reporter gene-based recombination lines for studies of genome stability, *Plant Epigenetics: Methods and Protocols*, eds I. Kovalchuk, F.J. Zemp, 2010, vol. 631, pp. 243–252.
  81. Kovalchuk, O., Kovalchuk, I., Arkhipov, A., Telyuk, P., Hohn, B., and Kovalchuk, L., The *Allium cepa* chromosome aberration test reliably measures genotoxicity of soils of inhabited areas in the Ukraine contaminated by the Chernobyl accident, *Mutat. Res.*, 1998, vol. 415, no. 1–2, pp. 47–57.
  82. Kovalchuk, O., Kovalchuk, I., Arkhipov, A., Hohn, B., and Dubrova, Y.E., Extremely complex pattern of microsatellite mutation in the germline of wheat exposed to the post-Chernobyl radioactive contamination, *Mutat. Res.*, 2003, vol. 525, no. 1–2, pp. 93–101.
  83. Geraskin, S.A., Dikarev, V.G., Zyablitskaya, Y.Y., Oudalova, A.A., Spirin, Y.V., and Alexakhin, R.M., Genetic consequences of radioactive contamination by the Chernobyl fallout to agricultural crops, *J. Environ. Radioact.*, 2003, vol. 66, no. 1–2, pp. 155–169.
  84. Kovalchuk, O., Dubrova, Y.E., Arkhipov, A., Hohn, B., and Kovalchuk, I., Germline DNA – Wheat mutation rate after Chernobyl, *Nature*, 2000, vol. 407, no. 6804, pp. 583–584.
  85. Abramov, V.I., Sergeeva, S.A., Ptitsyna, S.N., Semov, A.B., and Shevchenko, V.A., Genetic-effects and repair of single-stranded-DNA breaks in populations of *Arabidopsis thaliana* growing in the region of the Chernobyl-nuclear-power-station, *Genetika*, 1992, vol. 28, no. 6, pp. 69–73.
  86. Sparrow, A.H., Rogers, A.F., and Schwemmer, S.S., Radiosensitivity studies with woody plants, *Radiat. Bot.*, 1968, vol. 8, no. 2, pp. 149–174.
  87. Fedotov, I.S., Kal'chenko, V.A., Igoninna, E.V., and Rubanovich, A.V., Radiation and genetic consequences of ionizing irradiation on population of *Pinus sylvestris* L. within the zone of the Chernobyl NPP, *Radiats. Biol. Radioecol.*, 2006, vol. 46, no. 3, pp. 268–278.
  88. Kalchenko, V.A., and Rubanovich, A.V., Genetic-effects in gametes of *Pinus sylvestris* L. induced in the Chernobyl accident, *Genetika*, 1993, vol. 29, no. 7, pp. 1205–1212.
  89. Geras'kin, S., Oudalova, A., Dikareva, N., Spiridonov, S., Hinton, T., Chernonog, E., and Garnier-Laplace, J., Effects of radioactive contamination on Scots pines in the remote period after the Chernobyl accident, *Ecotoxicology*, 2011, vol. 20, no. 6, pp. 1195–1208.
  90. Geras'kin, S., Evseeva, T., and Oudalova, A., Effects of long-term chronic exposure to radionuclides in plant populations, *J. Environ. Radioact.*, 2013, vol. 121, pp. 22–32.
  91. Geras'kin, S.A., and Volkova, P.Y., Genetic diversity in Scots pine populations along a radiation exposure gradient, *Sci. Total Environ.*, 2014, vol. 496, pp. 317–327.
  92. Garnier-Laplace, J., Della-Vedova, C., Anderson, P., Copplestone, D., Cailes, C., Beresford, N.A., Howard, B.J., Howe, P., and Whitehouse, P., A multi-criteria weight of evidence approach for deriving ecological benchmarks for radioactive substances, *J. Radiol. Prot.*, 2010, vol. 30, no. 2, pp. 215–233.
  93. Alonzo, F., Hertel-Aas, T., Real, A., Lance, E., Garcia-Sanchez, L., Bradshaw, C., Vives i Batlle, J., Oughton, D.H., and Garnier-Laplace, J., Population modelling to compare chronic external radiotoxicity between individual and population endpoints in four taxonomic groups, *J. Environ. Radioact.*, 2016, vol. 152, pp. 46–59.
  94. Molinier, J., Ries, G., Zipfel, C., and Hohn, B., Transgeneration memory of stress in plants, *Nature*, 2006, vol. 442, no. 7106, pp. 1046–1049.
  95. Ostapenko, E.K., Vilenskii, E.R., Naumenko, V.D., Bubryak, I.I., and Grodzinskii, D.M., Genetic disturbances in waxy barley pollen under conditions of radioactive pollution after Chernobyl' disaster, *Ontogenez*, 1993, vol. 24, no. 5, pp. 11–19.
  96. Chankova, S.G., Kapchina, V.M., and Stoyanova, D.P., Some aspects of the plant radioresistance, *Radiats. Biol. Radioecol.*, 2000, vol. 40, no. 5, pp. 535–543.



97. Kovalchuk, I., Abramov, V., Pogribny, I., and Kovalchuk, O., Molecular aspects of plant adaptation to life in the Chernobyl zone, *Plant Physiol.*, 2004, vol. 135, no. 1, pp. 357–363.
98. Lysenko, E.A., Abramov, V.I., and Shevchenko, V.A., Effect of chronic irradiation on the genetic structure of natural populations of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., *Genetika*, 2000, vol. 36, no. 9, pp. 1241–1250.
99. Abramov, V.I., Fedorenko, O.M., and Shevchenko, V.A., Genetic consequences of radioactive contamination for populations of *Arabidopsis*, *Sci. Total Environ.*, 1992, vol. 112, no. 1, pp. 19–28.
100. Chankova, S.G., Dimova, E., Dimitrova, M., and Bryant, P.E., Induction of DNA double-strand breaks by zeocin in *Chlamydomonas reinhardtii* and the role of increased DNA double-strand breaks rejoining in the formation of an adaptive response, *Radiat. Environ. Biophys.*, 2007, vol. 46, no. 4, pp. 409–416.
101. Boubriak, I., Naumenko, V., Prokhnevsky, A., Osborne, D.J., and Grodzinsky, D., Long term impairment of DNA repair functions in pollen of *Betula verrucosa* L. from heavily radiocontaminated sites of Chernobyl, *Int. conf. Genetic Consequences of Emergency Radiation Situation*, Moscow, 2002, pp. 135–141.
102. Bubryak, I.I., and Grodzinsky, D.M., Functioning of DNA-repair systems in pollen of plants growing under different ecological conditions, *Fiziologiya i Biokhimiya Kulturnykh Rastenii*, 1985, vol. 17, no. 4, pp. 335–343.
103. Bubryak, I.I., and Grodzinsky, D.M., DNA repair in pollen of birch plant grown in conditions of radioactive contamination, *Radiobiologiya*, 1989, vol. 29, no. 5, pp. 589–594.
104. Bubryak, I.I., Naumenko, V.D., and Grodzinskii, D.M., Genetic damages induced in birch pollen by radionuclide contamination, *Radiobiologiya*, 1991, vol. 31, no. 4, pp. 564–567.
105. Kalchenko, V.A., and Fedotov, I.S., Genetic effects of acute and chronic ionizing radiation on *Pinus sylvestris* L. inhabiting the Chernobyl meltdown area, *Russ. J. Genet.*, 2001, vol. 37, no. 4, pp. 341–350.
106. Boubriak, I.I., Grodzinsky, D.M., Polischuk, V.P., Naumenko, V.D., Gushcha, N.P., Micheev, A.N., McCready, S.J., and Osborne, D.J., Adaptation and impairment of DNA repair function in pollen of *Betula verrucosa* and seeds of *Oenothera biennis* from differently radionuclide-contaminated sites of Chernobyl, *Ann. Bot.*, 2008, vol. 101, no. 2, pp. 267–276.
107. Kovalchuk, O., Burke, P., Arkhipov, A., Kuchma, N., James, S.J., Kovalchuk, I., and Pogribny, I., Genome hypermethylation in *Pinus silvestris* of Chernobyl – a mechanism for radiation adaptation? *Mutat. Res.*, 2003, vol. 529, no. 1–2, pp. 13–20.
108. Kordium, E.L., and Sidorenko, P.G., The results of the cytogenetic monitoring of the species of angiosperm plants growing in the area of radionuclide contamination after the accident at the Chernobyl Atomic Electric Power Station, *Cytol. Genet.*, 1997, vol. 31, no. 3, pp. 39–46.
109. Kovalchuk, O., Titov, V., Kovalchuk, I., Pogribny, I., and Arkhipov, A., Molecular aspects of plant adaptation to chronic radiation exposure, *Plant Biol. (Rockville)*, 2004, vol. 2004, p. 47.
110. Sidler, C., Li, D., Kovalchuk, O., and Kovalchuk, I., Development-dependent expression of DNA repair genes and epigenetic regulators in *Arabidopsis* plants exposed to ionizing radiation, *Radiat. Res.*, 2015, vol. 183, no. 2, pp. 219–232.
111. Boyko A, Kovalchuk I: Genetic and epigenetic regulation of genome stability in plants; 2010.
112. Boubriak, I., Naumenko, V., Lyne, L., and Osborne, D.J., Loss of viability in rye embryos at different levels of hydration: Senescence with apoptotic nucleosome cleavage or death with random DNA fragmentation; *Seed biology: advances and applications. Proc. 6th Int. Workshop on Seeds*, Merida, Mexico, 2000, pp. 205–214
113. Klubicova, K., Danchenko, M., Skultety, L., Miernyk, J.A., Rashydov, N.M., Berezhna, V.V., Pret'ova, A., and Hajduch, M., Proteomics analysis of flax grown in Chernobyl area suggests limited effect of contaminated environment on seed proteome, *Environ. Sci. Technol.*, 2010, vol. 44, no. 18, pp. 6940–6946.
114. Klubicova, K., Danchenko, M., Skultety, L., Berezhna, V.V., Uvackova, L., Rashydov, N.M., and Hajduch, M., Soybeans grown in the Chernobyl area produce fertile seeds that have increased heavy metal resistance and modified carbon metabolism, *PLoS One*, 2012, vol. 7, no. 10, e48169.
115. Syomov, A.B., Ptitsyna, S.N., and Sergeeva, S.A., Analysis of DNA strand break induction and repair in plants from the vicinity of Chernobyl, *Sci. Total Environ.*, 1992, vol. 112, no. 1, pp. 1–8.
116. Klubicova, K., Danchenko, M., Skultety, L., Berezhna, V.V., Rashydov, N.M., Hajduch, M., Radioactive Chernobyl environment has produced high-oil flax seeds that show proteome alterations related to carbon metabolism during seed development, *J. Proteome Res.*, 2013, vol. 12, no. 11, pp. 4799–4806.
117. Grodzinsky, D.M., Severe game of hide and seek, *Chernobyl: after effects of disaster for man and nature*, St. Petersburg, Nauka, 2007, pp. 8–12.
118. Dmitriev, A.P., Grodzinsky, D.M., Guscha N.I., and Kryzhanovskaya M.A., Effect of chronic irradiation on plant resistance to biotic stress in 30-km Chernobyl nuclear plant exclusion zone, *Russ. J. Plant Physiol.*, 2011, vol. 58, no. 6, pp. 1062–1068.
119. Dmitriev, A.P., Polishuk, V.P. and Guscha N.I.,

- Effects of low dose chronic radiation and heavy metals on plant-pathogen interactions, *The Lessons of the Chernobyl 25 Years Later*, ed. E.B. Burlakova et al., N.Y., Nova Sci. Publ. Inc., 2012, pp. 229–244.
120. Dyakov, Y.T., *Population biology of plant pathogen fungi*, Moscow, Muravei, 1998.
  121. Dmitriev, O.P., Guscha, M.I., Dyachenko, A.I., and Grodzinsky, D.M., Effect of low dose chronic irradiation on plant immunity potential and virulence of plant pathogenic fungi, *Science-practical conf. within the framework of International forum «Radioecology–2013 Chernobyl-Fukusima Consequences»*, Kyiv, 2013, pp. 128–130.
  122. Dmitriev, A.P., Grodzinsky, D.M., Guscha, N.I., Dyachenko, A.I., Effect of low dose chronic radiation on plant-pathogen interactions in 30-km Chernobyl exclusion zone, *International Science-practical forum «Radiobiology–2014»*, Kyiv, 2014, pp. 13–17.
  123. Garnaga, M.I., 30-km alienation zone of Chernobyl atomic station is the reservation of harmful objects of agricultural production, *Visnik Agricult. Sci.*, 2001, vol. 4, pp. 51–53.
  124. Shevchenko, A.V., Budzanivska, I.G., Shevchenko, T.P., Polischuk, V.P., and Spaar D., Plant virus infection development as affected by heavy metal stress, *Arch. Phytopath. Plant Prot.*, 2004, vol. 37, no. 4, pp. 139–146.
  125. Dmitriev, A.P., Guscha, N.I., Dyachenko, A.I., Grodzinsky, D.M., Microevolution processes in the 30-km Chernobyl exclusion zone, *IV International conference “Modern problems of genetics, radiobiology, radioecology, and evolution”*, St. Petersburg, 2015, p. 107.
  126. Polischuk, V.P., Shevchenko, T.P., Budzanivska, I.G., Shevchenko A.V., Demyanenko, F.P., and Boyko, A.L., Effects of radioactive and chemical pollution on plant virus frequency distribution, *NATO Security through Science Series – Environmental Security*, 2005, vol. 2, pp. 87–92.
  127. Polischuk, V.P., Shevchenko, O.V., Budzanivska, I.G., and Shevchenko, T.P., Abiotic environmental factors: effects on epidemiology of plant virus infections, *Virus Diseases and Crop Biosecurity*, ed. I. Cooper et al., Springer, 2006, pp. 121–132.
  128. Dmitriev, A., Shevchenko, O., Polischuk, V., Guscha, N., Effects of low dose chronic radiation and heavy metals on plants and their fungal and virus infections, *Data Sci. J.*, 2009, vol. 8, no. 24, pp. 49–66.
  129. Polischuk, V.P., Budzanivska, I.G., Ryzhuk, S.M., Patyka, V.P., and Boyko, A.L., *Monitoring of viral diseases of plants in bioecosystems of Ukraine*, Kiev: Phytosociocenter, 2001.
  130. Polischuk, V., Boyko, A., Spaar, D., Budzanivska, I., Boubriak, O., and Tyvonchuk, T., Monitoring of some phytoviral infections in Ukraine, *Arch. Phytopath. Plant Prot.*, 1998, vol. 31, no. 5, pp. 459–464.
  131. Tyvonchuk, T.P., Polischuk, V.P., and Boyko, A.L., Study of strain diversity of Tobacco mosaic virus in Ukraine, *Agroecology and biotechnology*, 1998, vol. 2, pp. 209–213.
  132. Tyvonchuk, T.P., Polischuk, V.P., Boyko, A.L., and Shevchenko, A.V., A comparative study of molecular and biological properties of two isolates TMV and its common strain UI, *5<sup>th</sup> Congr of EFPP*, Italy, 2000, pp. 228–231.
  133. Shevchenko, T.P., Tyvonchuk, T.Y., Viter, S.S., Radavsky, Y.L., Boyko, A.L., and Polischuk, V.P., Comparison of capsid proteins of Ukrainian isolates and common strain of tobacco mosaic virus after trypsin fragmentation, *Biopolym. Cell*, 2002, vol. 18, no. 5, pp. 429–435.
  134. Polischuk, V.P., Budzanivska, I.G., and Shevchenko, O.V., Spread of some virus diseases among representatives of wild flora in Chernobyl region, *12<sup>th</sup> International Plant Virus Epidemiology Symposium*, Arusha, Tanzania, 2013, vol. 1, p. 34.
  135. Kripka, A.V., Report Departm. Biophysics and Radiobiology, *Natl. Acad. Sci. Ukraine, Reports/Institute of Cell Biology and Genetic Engineering*, Kiev, 2010.
  136. Skok, A.V., *Variability of reproductive and growth processes of Scots pine in various areas of chronic radioactive contamination by Chernobyl NPP in southern non-Chernozem Russian Federation*. Dis. Dr. Sci., Bryansk; 2005.
  137. Zainullin, V.G., *Genetic effects of chronic irradiation by low dose ionizing radiation*. St-Petersburg, Nauka, 1998, 98 p.
  138. Grodzinskii, D.M., Response of the plant world on chronic irradiation in the zone of the Chernobyl nuclear power station, *The Lessons of Chernobyl 25 Years Later*, ed. E.B. Burlakova et al., N.Y.: Nova Sci. Publ. Inc., 2012, pp. 209–228.
  139. Lorimore, S.A., Coates, P.J., and Wright, E.G., Radiation-induced genomic instability and bystander effects: inter-related nontargeted effects of exposure to ionizing radiation, *Oncogene*, 2003, vol. 22, no. 45, pp. 7058–7069.
  140. Moller, A.P., Barnier, F., and Mousseau, T.A., Ecosystems effects 25 years after Chernobyl: pollinators, fruit set and recruitment, *Oecologia*, 2012, vol. 170, no. 4, pp. 1155–1165.
  141. Møller, A.P., and Mousseau, T.A., Determinants of interspecific variation population declines of birds after exposure to radiation at Chernobyl, *J. Appl. Ecol.*, 2007, vol. 44, no. 5, pp. 909–919.

Поступила 10.07.16