

Л. Т. Мищенко

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

**Влияние моделированной микрогравитации на ростовые процессы и фотосинтетический аппарат растений *Triticum aestivum* L., инфицированных вирусом полосатой мозаики пшеницы**

---

Вивчалися ростові процеси і фотосинтетичний апарат різних здорових і вірусифікованих сортів пшениці при вирощуванні в умовах змодельованих факторів мікрогравітації на універсальному кліностаті. Кліностат реалізує протягом вегетаційного періоду кілька схем переорієнтації рослин відносно вектора сили земного тяжіння. Висока специфічність вірусу смугастої мозаїки пшениці дозволяє рекомендувати сорт Апогей для вирощування в космічних оранжереях, оскільки інші ярі сорти Саратовська-29, Колективна-3 не виколюшувались. Фотосинтетичний апарат суперкарликового сорту Апогей має високий адаптаційний потенціал і зможе виконувати свою основну функцію — життєзабезпечення і формування рослинами зерен.

---

Создание космических летательных аппаратов, на которых длительное время работают космонавты, дали толчок развитию новых разделов космической биологии, в том числе космической фитофизиологии, фитопатологии, фитовирусологии [1].

Проведены исследования гравичувствительности клеток, процессов роста и развития здоровых растений, в том числе *Triticum aestivum* L., в условиях космического полета [2, 5]. Однако будут ли жизнеспособными вирусинфицированные растения пшеницы различных сортов в условиях микрогравитации? Состояние растений, пораженных вирусной инфекцией, в условиях космического полета не изучено. Высока вероятность того, что в стрессовых условиях космоса у растительных организмов может проявиться вирусная инфекция, которая в земных условиях находилась в латентной форме.

Для жизнеобеспечения космонавтов создаются космические оранжереи. Одной из культур растительного сообщества будущей космической оранжереи может быть пшеница [2, 6]. При долгосрочных полетах пшеница — белковый и витаминный компонент еды космонавтов, регенерат кислорода. Данные исследования невозможно проводить без первоначального скрининга сортов в условиях моделированной микрогравитации. Наша работа посвящена выяснению устойчивости различных сортов пшеницы к вирусной инфекции и условиям микрогравитации.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Изучался рост пшеницы в условиях моделированной микрогравитации на универсальном клиностате «Цикл-2», который реализует несколько схем переориентации растений относительно вектора силы земного тяготения. Клиностаты такого типа широко используются в исследованиях гравитропической реакции и в космической биологии [3, 7]. Растения инфицировали вирусом полосатой мозаики пшеницы (ВПМП).

Выбор ВПМП обусловлен тем, что он поражает озимую и яровую пшеницу, другие злаковые — ячмень, кукурузу, просо. Этот вирус недостаточно изучается в Украине и в обычных земных условиях, хотя вредоносность его чрезвычайно высока. В условиях клиностатирования исследовались сорта пшеницы различного эколого-географического происхождения: Чайка, Альбатрос одесский, Донская полукарликовая, Саратовская-29 (степная зона Украины и России), Коллективная-3 (лесостепная зона Украины), Апогей (селекция США).

ВПМП накапливали в лабораторных условиях на растениях ячменя Рось и овса Скакун. Схема выращивания опытных растений: 1-суточные наклюнувшиеся проростки помещали в контейнеры с искусственным субстратом. Вначале субстрат увлажняли дистиллированной водой, а в процессе

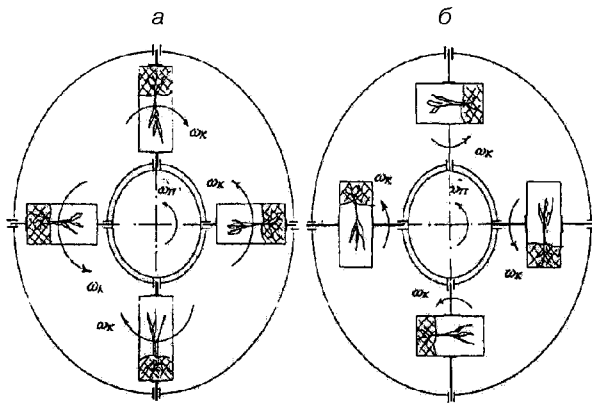


Рис. 1. Схема вращения контейнеров клиностата «Цикл-2»: а — горизонтальное вращение, б — вертикальное вращение,  $\omega_k$  — угловая скорость вращения контейнеров в плоскости, параллельной вектору силы тяжести,  $\omega_n$  — угловая скорость вращения платформы в плоскости, перпендикулярной к вектору силы тяжести

вегетации растений — поливали специальным питательным раствором, содержащим комплекс макро- и микроэлементов. Растения выращивали в условиях горизонтального и вертикального клиностатирования (для контейнеров  $v_{кон} = 2-4$  об/мин, для платформы —  $v_{пл} = 1$  об/мин). На рис. 1 представлена схема вращения контейнеров: а) контейнеры размещены горизонтально и вращаются вокруг своих осей, перпендикулярно к оси платформы; б) растения вращаются в вертикальной плоскости, параллельно вектору силы земного тяготения. При этом два контейнера находились ближе к оси вращения платформы, условно  $R = 1$ , а два других — на 60 % дальше,  $R = 1.6$ . В таких условиях постоянно происходит изменение угла между вектором силы земного тяготения и осью роста растений. Контролем служили растения, выращиваемые в неподвижных контейнерах и в открытых вегетационных сосудах. Условия микро-

климата и водно-минерального питания клиностатированных и контрольных растений были идентичны. Через 10—12 сут, в фазе трех листьев половину растений механически инокулировали вирусом ВПМП, используя карборунд и фосфатный буфер. Здоровые растения обрабатывали лишь буфером без ВПМП. Эксперимент длился 30—45 сут. Световой день составлял 16 ч при освещенности 5—6 тыс. люкс, температура  $21 \pm 1$  °С. Передачу вирусной инфекции и репликацию ВПМП в клетке контролировали разными методами: капельной агглютинации, иммунофлуоресценции и иммуноферментного анализа, а также электронной микроскопии. Ростовые процессы изучали методами морфо- и биометрии. Фотосинтетические пигменты определяли спектрофотометрически [4]. Математическая обработка результатов проведена методом дисперсионного анализа.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ проведенных опытов свидетельствует о том, что ростовая реакция растений пшеницы в условиях клиностатирования изменялись неоднозначно. Эта зависимость связана с сортовыми особенностями (озимые, яровые), от наличия и концентрации вирусной инфекции, которая проявлялась в суrowsти симптомов; от условий клиностатирования.

Данные табл. 1 свидетельствуют о том, что яровая пшеница сорта Саратовская-29 (русская селекция) накапливала биомассы надземной части на 32.3 % и корней на 46.6 % больше у неподвижных вирусинфицированных растений, по сравнению со здоровыми (варианты 7 и 8). Такая же закономерность отмечена и при горизонтальном клиностатировании (вариант 1 и 2). А при вертикальном клиностатировании наблюдалось снижение биомассы надземной части у ВПМП-инфицированных растений — варианты 3, 4 и 5, 6. Реакция же корней

Таблица 1. Влияние клиностатирования на биометрические показатели растений пшеницы сорта Саратовская-29 (34 сут,  $v_{пл} = 1$  об/мин,  $v_{кон} = 4$  об/мин)

№	Варианты	Тип клиностатирования	Масса 1 растения, мг	Длина, см			
			Надземная часть	Корень	Надземная часть	Корень	
1	Здоровые	Горизонтальное	263	42.9	32	7	
2	Инфицированные	Горизонтальное	294	53.1	22	7.5	
3	Здоровые	Вертикальное, $R = 1.0$	318	65	31	10.5	
4	Инфицированные	Вертикальное, $R = 1.0$	187	57	26	8.5	
5	Здоровые	Вертикальное, $R = 1.6$	276	42	27.5	6	
6	Инфицированные	Вертикальное, $R = 1.6$	199	77	24	3.8	
7	Здоровые	Неподвижный контейнер	363	45	30.6	13	
8	Инфицированные	Неподвижный контейнер	480	66	34.7	14	
9	Здоровые	Неподвижный, без контейнеров	645	95	34.8	14.6	
10	Инфицированные	Неподвижный, без контейнеров	567	99	32.4	13	
		НСР <sub>0.05</sub>	18	8.7	3.9	1.5	

Таблица 2. Влияние клиностатирования (34 сут) на содержание хлорофиллов в листьях пшеницы сорта Чайка, мг/% на сырое вещество ( $v_{пл} = 1$  об/мин,  $v_{кон} = 2$  об/мин)

№	Варианты	Тип клиностатирования	Хлорофиллы, мг/100г сырого вещества				Каротиноиды
			a	b	a + b	a/b	
1	Здоровые	Горизонтальное	135.3	64.8	200.1	2.09	41.5
2	Инфицированные	Горизонтальное	118.1	59.2	177.3	1.99	38.7
3	Здоровые	Вертикальное	129.4	71.9	207.3	1.80	38.8
4	Инфицированные	Вертикальное	121.0	55.7	176.7	2.17	39.0
5	Здоровые	Неподвижный контейнер	103.2	47.6	150.8	2.17	37.3
6	Инфицированные	Неподвижный контейнер	115.4	54.6	170.0	2.11	38.5
7	Здоровые	Неподвижный открытый контейнер	108.2	51.8	160.0	2.08	37.9
8	Инфицированные	Неподвижный открытый контейнер НСР <sub>0.05</sub>	123.7 10.1	58.9 6.2	182.6 11.8	2.07 0.02	43.8 0.9

была противоположной — большее накопление биомассы при четком отрицательном геотропизме — варианты 5, 6;  $R = 1.6$ . Такое явление можно объяснить усилением защитной реакции растений на начальной стадии вирусной инфекции. Это подтверждается результатами по содержанию фотосинтетических пигментов у озимого сорта Чайка (одеская селекция), табл. 2.

У вирусинфицированных растений в неподвижных контейнерах (и без них) отмечено достоверное повышение пигментов *a*, *b*, каротиноидов (варианты 6, 5 и 8, 7). У здоровых растений при клиностатировании наблюдалось возрастание хлорофиллов *a*, *b*, *a + b* по сравнению с неподвижным контролем (варианты 1, 3 и 5, 7). У вирусинфицированных — снижение по сравнению со здоровыми, (варианты 2, 1 и 4, 3), но повышение по сравнению с неподвижным контролем (варианты 2, 4 и 5, 7).

Таким образом, повышенное содержание хлорофиллов у сорта Чайка с длинным периодом вегетации может быть адаптивной реакцией на вирусную инфекцию при клиностатировании. Наличие вирусной инфекции было подтверждено методом выделения и очистки ВПМП с последующим просмотром препаратов в электронном микроскопе ЭМ-125. На электроннограммах хорошо видны изогнутые нити ВПМП длиной около 700 нм и шириной 12-13 нм (рис. 2). Из всех исследованных нами сортов пшеницы влияние вирусной инфекции как при клиностатировании, так и в неподвижных вариантах отчетливо проявилось у раннеспелого суперкарликового сорта Апогей (рис. 3). Кстати, этот сорт и создан специально для космических полетов селекционером Б. Бакби из университета штата Юта (США).

Здоровые клиностатированные растения были более тургесцентными, имели интенсивную зеленую окраску, образовали больше колосков. Это подтверждает биометрическими характеристиками (табл. 3), так и данными по содержанию пигментов (рис. 4). Анализируя табл. 3, мы видим, что клиностатирование существенно влияет на репродуктивную

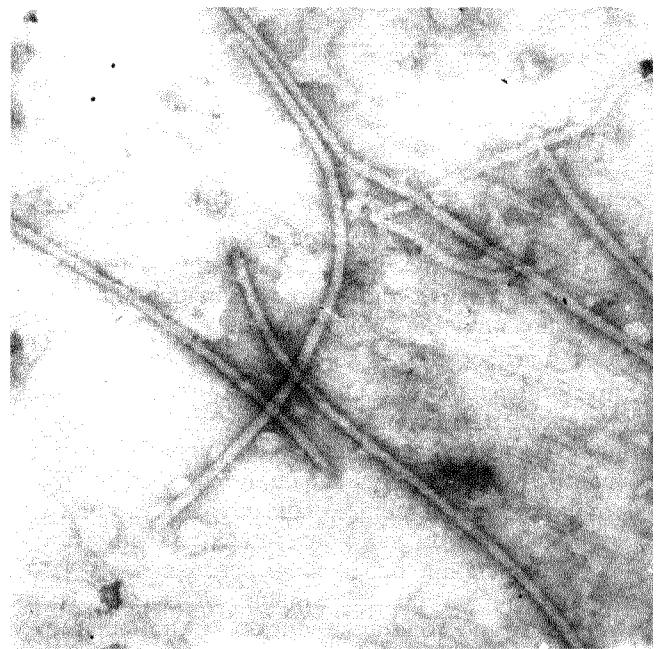


Рис. 2. Электроннограмма очищенного препарата ВПМП, инструментальное увеличение 40000

функцию растений пшеницы: количество колосков у здоровых растений уменьшается в 4-5 раз по сравнению с неподвижным контролем. Это согласуется с данными об угнетении развития генеративных органов разных растений в условиях микрогравитации [4]. Вирусная инфекция является дополнительным лимитирующим фактором: она в два раза уменьшает образование колосков в неподвижных вариантах и в пять раз — в условиях клиностатирования. Биомасса растений также является достаточно чувствительной к действию обоих факторов. Масса надземной части здоровых растений в зависимости от типа клиностатирования уменьшается в 1.2—1.8 раза, для корневой системы наблюдается ее снижение в 1.3—2.4 раза. Влияние вирус-

Таблица 3. Влияние 35-суточного клиностатирования на биометрические характеристики растений пшеницы сорта Апогей ( $V_{пл} = 1$  об/мин,  $V_{кон} = 2$  об/мин)

№	Варианты	Тип клиностатирования	Количество растений	Количество колосков	Масса 1 растения, мг		
					Надземная часть	Корневая система	
1	Здоровые	Горизонтальное	29	5	167.9	35.6	
2	Инфицированные	Горизонтальное	29	1	118.1	26.1	
3	Здоровые	Вертикальное, $R = 1.0$	28	0	191.5	48.5	
4	Инфицированные	Вертикальное, $R = 1.0$	26	1	214.8	45.2	
5	Здоровые	Вертикальное, $R = 1.6$	26	5	286.5	40.2	
6	Инфицированные	Вертикальное, $R = 1.6$	22	1	155.2	47.0	
7	Здоровые	Неподвижный контейнер	29	19	315.5	61.1	
8	Инфицированные	Неподвижный контейнер	30	9	174.0	52.3	
9	Здоровые	Неподвижный, без контейнеров	29	25	343.2	85.2	
10	Инфицированные	Неподвижный, без контейнеров	28	18	274.8	40.4	
					NCP <sub>0.05</sub>	15.2	2.8

Рис. 3. Рост пшеницы Апогей в клиностате «Цикл-2»: а — вертикальное клиностатирование  $R = 1.6$ . Корни растут вверх по субстрату (отрицательный геотропизм), стебли дезориентированы; б — выколосившиеся растения в неподвижном контроле; в — вертикальное клиностатирование  $R = 1.0$ . Корни растут вверх по субстрату; стебли — под наклоном в  $45^\circ$ 

ной инфекции на неподвижные растения приводит к уменьшению массы в 1.2—1.8 раза для надземной части и в 1.2—2.1 раза для корневой системы. В условиях горизонтального клиностатирования вирусная инфекция дополнительно снижает массу обеих частей приблизительно на 40 %, тогда как при вертикальном клиностатировании наблюдается смена обеих знаков: как уменьшение, так и некоторые увеличение биомассы. Подобные результаты были получены и в опыте с 39-суточным выращиванием растений сорта Апогей.

Поскольку зеленые пигменты (хлорофиллы *a* и *b*) выполняют фотосинтетические функции и участвуют в процессе накопления органической массы, их содержание в листьях растений, выращиваемых при воздействии различных экологических факторов (в т. ч. в условиях невесомости), является одним из основных показателей продуктивности растений.

Анализ результатов содержания пигментов в листьях здоровых растений показал, что все типы клиностатирования приводили к уменьшению фотосинтетических пигментов по сравнению с неподвижными контролями (рис. 4). Вирусная инфекция снижала содержание пигментов как в условиях

клиностатирования, так и в неподвижных растениях. Такая реакция фотосинтетических пигментов здоровых и вирусинфицированных растений сорта «Апогей» на условия клиностатирования и обусловила дальнейшее формирование продуктивности растений.

Полученные результаты могут быть интерпретированы с точки зрения концепции «источник—сток» [9]. Уменьшение продуктивности неподвижных растений пшеницы сорта Апогей при вирусной инфекции обусловлено появлением дополнительного потребителя метаболитов. Клиностатирование, особенно вертикальное, нарушает скоординированное функционирование всего звена метаболизма, транспортировки и использования метаболитов, подавая противоречивые сигналы на датчики авторегуляции (хлоропласты и гравирецепторы).

## ВЫВОДЫ

Условия клиностатирования существенно влияют на процессы роста, развитие и репродукции растений, фотосинтетическую продуктивность. Вирусная инфекция дополнительно вмешивается в эти про-

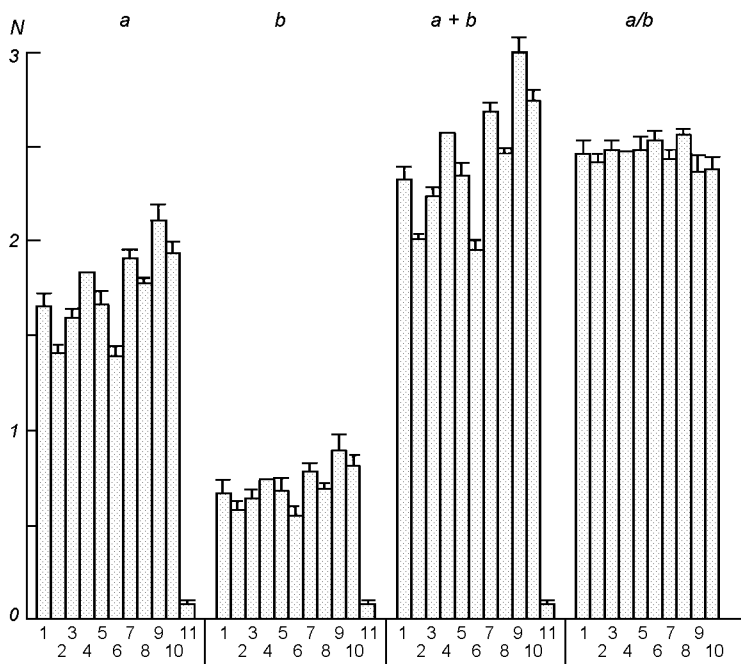


Рис. 4. Влияние 35-сут клиностатирования на содержание пигментов в листьях пшеницы «Апогей» ( $v_{пл} = 1$  об/мин,  $v_{кон} = 2$  об/мин). Номера столбцов соответствуют номерам вариантов в табл. 3

цессы. Фотосинтетический аппарат суперкарликового сорта Апогей имеет высокий адаптационный потенциал, который обеспечивает нормальную жизнедеятельность растительного организма в условиях моделированной микрогравитации, которая находит свое выражение в формировании генеративного органа — колоса. Сорт Апогей является перспективным для выращивания в космических оранжереях, так как другие яровые сорта (Саратовская-29, Коллективная-3) не выколашивались за этот период выращивания. Таким образом, в условиях космических оранжерей можно выращивать пшеницу сорта Апогей, даже и ВПМП-инфицированную, которая из-за высокой специфичности вируса будет безопасна для других растений, экипажа, самих летательных аппаратов и сможет выполнять свою основную функцию — жизнеобеспечение и формирование растениями зерновой продукции.

1. Кордюм Е. Л. Космічна біологія в Україні: концепція та експериментальні дані // Космічні дослідження в Україні 2000—2002. — Київ, 2002.—С. 55—66.
2. Левинских М. А. Онтогенез, репродукция и метаболизм высших растений в условиях космического полета: Автореф. дис... д-ра биол. наук. — М., 2002.—49 с.
3. Меркис А. И. Сила тяжести в процессе роста растений. — М., 1990.—184 с.
4. Kordyum E. L. Plant reproduction systems in microgravity: experimental data and hypotheses // Adv. Space Res.—1998.—21, N 8/9.—P. 1111—1120.
5. Kordyum E. Gravisensitivity of Plant Cells // 23rd Annual Int. Gravitational Physiology Meeting. Abstracts. — Stockholm, Sweden, 2002.—P. 174.

6. Maffei M., et al. Plant in Space: Physiological and Biotechnological Considerations // 23rd Annual Int. Gravitational Physiology Meeting. Abstracts. — Stockholm, Sweden, 2002.—P. 119.
7. Shen-Miller J., Hinchman R., Gordon S.A. Thresholds for Georesponse to Acceleration in Gravity-Compensated Avena Seedlings // Plant Physiol.—1968.—43, N 13.—P. 338—344.
8. von Wettstein D. Chlorophyll-letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden // Exp. Cell Res.—1957.—12, N 3.—P. 497—506.
9. Wardlaw I. F. Translocation and source-sink relationship // The Biology of Crop Productivity. — New York: Acad. Press, 1980.—P. 297—339.

#### THE EFFECT OF ARTIFICIAL GRAVITY ON GROWS PROCESSES AND PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF TRITICUM AESTIVUM L. INFECTED BY THE WHEAT STREAK MOSAIC VIRUS

L. T. Mishchenko

We studied grows processes and photosynthetic apparatus of different healthy and virus infected wheat plants under the conditions of simulating some factors of microgravity on universal clinostat. The clinostat realizes some schemes of reorientation of plants relative to the force of gravity over a vegetative period. A high specificity of wheat streak mosaic virus allows us to recommend the Apogee wheat variety for cultivation in space greenhouses because other spring varieties, Saratovska-29 and Colectyvna-3, did not ear, in contrast to Apogee, over the same period of cultivation. The photosynthetic apparatus of the superdwarf Apogee wheat variety has a high adaptable potential and can carry out its basic function that is life-support and formation of grains by plants.