

ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ СЕМЕННОЙ РЕПРОДУКЦИИ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Попова А. Ф.

Институт ботаники им. Н.Г.Холодного АН Украины, Киев

Одной из фундаментальных проблем космической биологии, непосредственно связанных с созданием технологий автотрофного звена в системах жизнеобеспечения космонавтов в длительных космических полетах является выяснение возможностей высших растений, включая сельскохозяйственные культуры, осуществлять полный онтогенез, от семени до семени, в первом и последующих поколениях в условиях микрогравитации. Это обусловлено тем, что высшие растения рассматриваются как важные компоненты автотрофного звена таких систем благодаря их способности регенерировать кислород в атмосфере кабины космических летательных аппаратов, а также возможности использовать их в качестве продуцентов витаминных и питательных веществ, необходимых человеку. О приоритетности и важности проблемы по изучению воздействия микрогравитации на репродуктивное развитие растений свидетельствует тот факт, что одной из подкомиссий Научной комиссии КОСПАР по космической биологии и медицине выделен раздел «Природные и искусственные экосистемы» [2].

Исследования возможностей высших растений осуществлять полный цикл онтогенеза, от семени до семени, направлены на изучение закономерностей дифференцировки зародышей и особенностей накопления в них запасных веществ в условиях микрогравитации, а также для выявления причин нарушений, возникающих в процессе их репродуктивного развития в этих условиях, что может приводить к образованию неполноценных семян. Считают [12], что некоторые стадии репродуктивного развития растений могут быть подвержены воздействию измененной гравитации, в первую очередь, микро- и макроспорогенез, а также опыление-оплодотворение. Кроме того, исследования полового воспроизводства как наиболее важного этапа онтогенеза высших растений являются важным звеном для оценки гравичувствительности растений и отбора видов, наиболее адаптированных к воздействию микрогравитации.

Хотя исследования многих аспектов генеративного размножения высших растений в микрогравитации были начаты довольно давно [10, 3-7, 11, 13-22], проблема получения полноценного первого и второго поколений остается открытой до сих пор.

К настоящему времени в условиях космического полета на борту космических кораблей и орбитальной станции "Мир" получены семена только у трех видов однолетних высших растений — *Arabidopsis thaliana* L. Heynh., *Brassica rapa* L. и *Triticum aestivum* L. [7, 4, 5, 21, 22)]. Однако сформировавшиеся в условиях микрогравитации семена характеризовались меньшими размерами и пониженной жизнеспособностью по сравнению с наземными контролями. Кроме того, в опытных семенах выявлялись также отличия в накоплении запасных питательных веществ (в полетном варианте по-

следние представлены преимущественно полисахаридами, тогда как в контрольном варианте — белками и липидами) [21]. В процессе формирования зародышей в условиях космического полета отмечали также снижение утилизации развивающимися зародышами запасных питательных веществ, в первую очередь полисахаридов из клеток интегументов [18].

Различные аспекты репродуктивного развития высших растений в условиях космического полета изучали с использованием только 5 видов растений, в частности: *Tradescantia*, *Arabidopsis*, *Muscari*, *Brassica* и *Triticum*, причем были отмечены различные отклонения на разных фазах формирования генеративных органов и семени в целом.

Уже в первом эксперименте, когда высшее растение — *Arabidopsis thaliana*, доставляли на орбиту в фазе цветочных бутонов, было выявлено наличие некоторых отклонений в развитии растений по сравнению с контролем [10], однако следует отметить, что часть цветков зацвели на Земле еще перед стартом, другая часть — на орбите. Количество жизнеспособных семян, сформировавшихся в стручках в космическом полете, было значительно меньшим по сравнению с наземным контролем. Состояние самих зародышей, к сожалению, в этом эксперименте не исследовали.

Некоторое ускорение в развитии пыльцевых зерен отмечали в эксперименте с воздушно-сухими луковичками растений *Muscari racemosum* после 3-месячного пребывания их в условиях космического полета в покоящемся состоянии [13]. При последующем их развитии на Земле в условиях лаборатории, вплоть до их цветения, наряду с типичными для данного вида пыльцевыми зернами, выявляли сформированные пыльцевые зерна, находящиеся на 3-клеточной стадии, то есть они имели вегетативное ядро и два спермия. В некоторых пыльцевых гнездах отмечали митотическое деление генеративной клетки. В норме для видов *Liliaceae* свойственный 2-клеточный тип пыльцевых зерен, то есть последние содержат вегетативную и генеративную клетки, а формирование спермиев в результате деления генеративной клетки осуществляется уже в пыльцевой трубке в процессе прорастания пыльцевых зерен [13].

Образование стерильных семян отмечали у растений *Arabidopsis thaliana*, доставленных на борт космического корабля в фазе двух семядольных листьев, причем морфологически цветы и стручки (на более поздних стадиях развития) были сходны с наземным контролем [15]. Кроме того, были выявлены также нарушения в процессе дифференциации андроцея, что приводило к стерильности микроспор.

Многочисленные проявления стерильности андроцея и гинецея на разных стадиях их развития, в частности дегенерация микроспор на стадии тетрад или после их расхождения, уменьшение количества цитоплазмы и запасных веществ в пыльцевых зернах, усиление вакуолизации клеток интегументов, сморщивание и гибель семян было продемонстрировано в ряде непродолжительных (6-, 10- и 11-дневных) экспериментов с растениями *Arabidopsis* [17, 20]. Вследствие недоразвития тычиночных нитей во многих цветках в условиях космического полета пыльца из пыльников не достигала рыльца, что препятствовало нормальному процессу опыления-оплодотворения [17].

Впервые семена растений *Arabidopsis* были получены в условиях космического полета в длительном эксперименте (на протяжении 69 суток), начиная с момента посева семян на агаризованную питательную среду [7]. Однако только половина растений имели сформированные стручки с семенами, тогда как остальные стручки были партенокарпическими. Стручки, сформировавшиеся в космическом полете, были более мелкими по сравнению с контрольными стручками, которые имели хорошо развитые семена. Биометрические показатели растений (высота и масса растений, размеры отдельных органов) в условиях космического полета были снижены в 2–13 раз по сравнению с наземными контролями. Количество непрорастающих семян и эмбриональных летелей (сеянцы погибали на стадии семядолей) также было значительно большим в опытном варианте, чем в контрольном, что, несомненно, свидетельствует о нарушениях в процессе формирования семян в условиях космического полета [7].

Прохождение полного цикла онтогенеза растений суперкарликовой пшеницы (*Triticum aestivum* L., сорт Апогей) было достигнуто при ее выращивании на борту ОС «Мир» [3]. Так, в экспериментах «Оранжерея-1» и «Оранжерея-2» была показана сходная длительность полного цикла онтогенеза и отдельных его стадий в условиях космического полета по сравнению с наземными контролями. Однако у растений, выращенных на борту ОС «Мир», наблюдали существенные изменения в морфологии колосьев и нарушения в строении репродуктивных органов. Наряду с усилением кущения растений в условиях космического полета, отмечали уменьшение длины соцветий и остей кроющих цветочных чешуй, а также массы колосьев у опытных растений почти в два раза по сравнению с контрольными. В то же время было выявлено увеличение числа элементарных колосков, закладывающихся в колосе в условиях космического полета (14–16 против 7–8 в контроле). Среднее число цветков в колосках, развивающихся в условиях микрогравитации, возросло до 5 против 3 в наземном контроле [3, 5]. Во всех сформировавшихся в условиях космического полета 280 колосьях отсутствовали зерновки. Считается [24, 1, 5], что это результат 100 %-й мужской стерильности. Из-за стерильности пыльцы и отсутствия опыления в семяпочках были выявлены неоплодотворенные зародышевые мешки на разных стадиях их дегенерации. По мнению авторов, отмеченные изменения могут быть вызваны фитотоксическим воздействием этилена, концентрация которого достигала до 0.3–1.8 мг/м³.

В последующем эксперименте с пшеницей в условиях микрогравитации в оранжерее «Свет» использовали сорта УШЮ-Апогей и линии 20-1-Короткостебельная, отличающиеся определенной устойчивостью репродуктивной сферы к воздействию повышенных концентраций этилена в воздухе, как показали модельные эксперименты (5). На протяжении полного цикла онтогенеза указанных растений в условиях микрогравитации получено 508 зерновок с 12 растений, что на 38 % ниже показателей лабораторного контроля и на 69 % выше, чем в варианте при выращивании растений в атмосфере с повышенным содержанием этилена (до 1 мг/м³). Следует отметить, что масса «космических» семян была меньшей, чем в наземных контролях [5]. Образовавшиеся в усло-

виях космического полета зерновки, высеянные снова на борту орбитальной станции «Мир», дали возможность получить второе поколение. Однако сформировавшиеся зерновки характеризовались более низкой жизнеспособностью и имели меньший размер по сравнению с наземным контролем (6).

Эмбриологический анализ развития женского гаметофита и дифференциации органов зародышей зерновок пшеницы (сорт Короткостебельная) показал, что влияние микрогравитации проявлялось довольно часто в значительном удлинении макроспоры, частичной деградации элементов зародышевого мешка и нуцеллуса [9]. В космическом варианте отмечали изменения в дифференциации органов зародыша, в частности, более слабое развитие проводящей системы щитка и его вытягивание. Клетки суспензора характеризовались большими размерами и усиленной их вакуолизацией по сравнению с контролем, а также наличием клеток с извилистыми профилями [9].

Впервые около 40 семян сформировались у растений *Brassica rapa* при культивировании их на борту ОС "Мир" в 1997 г. [11]. В последующем длительном космическом эксперименте на борту орбитальной станции «Мир» в оранжерее "Свет" были получены семена первого и второго поколений растений *Brassica rapa* (21). Выявлено статистически достоверное уменьшение массы семян, сформировавшихся в условиях космического полета по сравнению с послеполетным контролем, которое происходило в основном за счет уменьшения числа клеток семядолей зародыша. Установлены различия в аккумуляции запасных веществ в зародышах: в полетном варианте они представлены преимущественно крахмалом в отличие от липидов и белков в контрольных семенах [21].

Растения второго поколения, полученные из семян, сформировавшихся в условиях микрогравитации, переходили к генеративной фазе онтогенеза, однако отставание их развития проявлялось в уменьшении и опадении цветочных бутонов, тогда как растения, выросшие из «космических» семян, в земных условиях нормально плодоносили [21].

Украинско-американский совместный эксперимент, выполненный с участием украинского космонавта Леонида Каденюка, является уникальным в том плане, что на протяжении исследуемого периода в течение 16 дней осуществлялось искусственное опыление растений *Brassica rapa* (фото 1) согласно циклограммы эксперимента, что позволило получить зародыши с четкой идентификацией их возраста. Исследования зародышей на последовательных стадиях их развития показали сходство морфологической дифференцировки зародышей, сформировавшихся в космическом полете и в наземном контроле [18]. В то же время, сравнительный анализ формирования зародыша и семени в целом на одинаковых стадиях развития показал, что утилизация полисахаридов развивающимся зародышем из клеток внешнего интегумента несколько отставала в полетном варианте по сравнению с наземным контролем [18, 23]), что может свидетельствовать об угнетении трофических функций зародышей у полетных растений.

Таким образом, к настоящему времени в условиях космического полета получены семена только у трех видов высших растений, как было отмечено выше, однако последние, характеризовались уменьшением размера и пониженной всхожестью по срав-

нению с наземным контролем. Это, по сути, не решило проблему семенной репродукции растений в условиях микрогравитации, и не до конца выясненными остаются причины нарушений в репродуктивном развитии при воздействии микрогравитации, хотя к настоящему времени накоплен довольно обширный материал о жизнедеятельности растительных организмов в условиях космического полета. Полученные данные свидетельствуют о влиянии микрогравитации на ростовые показатели и репродуктивное развитие растений.

Выявлению стадий репродуктивного развития, наиболее подверженных влиянию микрогравитации, способствуют также модельные эксперименты с применением медленных горизонтальных клиноставов, препятствующих гравирецепции растений. Как показали результаты клиноставных экспериментов, в условиях частичного моделирования эффектов микрогравитации также отмечены нарушения в семенной продукции растений. В экспериментах с *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. и *Chenopodium rubrum* L. было установлено, что только 50 % растений в условиях клиноставирования плодоносили [8].

Наличие отклонений в репродуктивном развитии растений в условиях микрогравитации дает основание выдвинуть несколько гипотез для объяснения причин выявленных нарушений. Они могут быть вызваны дефицитом питания, отсутствием опыления-оплодотворения, составом воздушной среды в объеме культиваторов [14], а также изменением гормонального баланса, в частности концентрации этилена [3]. Кроме того, не выясненными до настоящего времени остаются вопросы: 1) зародыши каких высших растений — однодольных или двудольных являются более чувствительными к влиянию микрогравитации; 2) зависит ли репродуктивная способность растений в условиях микрогравитации от их фотопериода.

Изучение формирования системы семенного размножения покрытосеменных растений в условиях микрогравитации остается актуальной проблемой и дальнейшие исследования целесообразно направить на: 1) выяснение особенностей микро- и микроспорогенеза, развитие мужского и женского гаметофитов, опыления-оплодотворения, развития зародыша и эндосперма в этих условиях с целью оценки степени фертильности пыльцевых зерен, зародышевых мешков и семян; 2) изучение процесса аккумуляции запасных питательных веществ в семенах разного типа – с эндоспермом или с семядолями с целью выявления критических стадий в темпах и характере накопления указанных веществ, которые могут быть подвержены влиянию микрогравитации; 4) исследование гормонального статуса растений в процессе их репродуктивного развития в условиях измененной гравитации; 5) изучение семенной продукции однодольных и двудольных видов, а также растений с различной продолжительностью фотопериода; 6) определение дифференциальной активности генов ряда структурных, регуляторных запасных белков и полисахаридов на последовательных этапах развития зародыша и эндосперма с использованием современных методов клеточной биологии, биохимии и молекулярной биологии.

1. Веселова Т. Д., Ильина Г. М., Т. Т. Джалилова и др. Цитоэмбриологические исследования суперкарликовой пшеницы, выросшей на борту орбитального комплекса Мир//Авиакосмичес. и эколог. медицина – 1999. – 33. – 2. – Р. 30–37.
2. Кордюм С. Л. Космічна біологія: сучасний стан в світі та в Україні//Косм. наука і технологія. – 1997. – 3. – 3/4. – С. 5–15.
3. Левинских М. А., Сычев В. Н., Дерендяева Т. А. и др.//Влияние космических факторов на рост и развитие суперкарликовой пшеницы в оранжерее "Свет"// Авиакосмич. и эколог. медицина, – 1999. – 33. – № 2. – С. 37–41.
4. Левинских М. А., Сычев В. Н., Дерендяева Т. А. и др. Полный цикл онтогенеза пшеницы в условиях космического полета//Мат. Рос. конф., Москва, 26–29 сентября 2000. – М.: Слово. – 2000б. – С. 253–254.
5. Левинских М. А., Сычев В. Н., Дерендяева Т. А. и др., Выращивание пшеницы «от семени до семени» в условиях космического полета//Авиакосмич. и экологич. медицина. –2000а. –34.– №4. – С. 37–43.
6. Левинских М. А., Сычев В. Н., Подольских И. Г. и др. Исследования онтогенеза, репродукции и метаболизма высших растений в серии экспериментов в оранжерее "Свет" на борту ОК "Мир"//Матер. XII конф. "Космич. биол. и авиакосмич. мед." – 2002. – С. 208–209.
7. Меркис А. И., Лауринавичюс Р. С. Полный цикл индивидуального развития растений *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. на борту орбитальной станции Салют-7//АН СССР – 1983. – 271. –С. 509–512.
8. Меркис Ф. И., Лауринавичюс З. С., Рупайнене О. Ю., Савичене Э. К.//Рост и развитие растений в условиях, имитирующих невесомость//ДАН СССР – 1975. – 226. – 4.– С. 978 981.
9. Мухитдинова З. Р., Жамбакин К. Ж., Мухамбетжанов С. К. и др. Анатомо-морфологические особенности генеративных органов пшеницы в условиях космического полета//Тез. докл. II Междунар. конф. по анатомии и морфологии растений, Санкт-Петербург, 2002, с. 166–167.
10. Парфенов Г. П., Абрамова В. М. Цветение и созревание семян *Arabidopsis* в невесомости. Эксперименты на биоспутнике "Космос-1129"//ДАН СССР. – 1981 – 256. – С. 254.
11. Сычев В. Н., Шепелев Е. Я., Мелешко Г. Й. и др. Биологические системы жизнеобеспечения: исследования на борту орбитального комплекса "Мир"//Пилотируемые полеты в космос. Четвертая междунар. научно-практ. конф., 21-22 марта 2000г., Звездный городок, Моск. обл., Рос. Федер. – 2000. – С. 128–130.
12. Halstead T. W., Dutcher F. R. Plants in space//Annu. Rev. Plant Physiol. – 1987.–38. – P. 317–345.
13. Kordyum E. L, Popova A. F., Mashinsky A. L. Influence of genital organ formation in *Muscari racemosum* and *Anethum graveolens*//Life Sci. and Space Res. – 1979. – 17. – P. 301–304.
14. Kordyum E. L. Plant reproduction systems in microgravity: experimental data and hypotheses//Adv. Space Res. – 1998. – 21. – N 8/9 – P. 1111–1119.
15. Kordyum E. L., Sytnik K. M., Chernyaeva I. I. Peculiarities of genital organ formation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. under spaceflight conditions // Edv. Space Res. – 1983.–3.– С. 247–251.
16. Kuang A, Musgrave M. E. Matthews S. W. Seed production under spaceflight conditions//Plant Physiol. – 1995a. – 108. – P. 57–64.
17. Kuang A, Musgrave M. E., Matthews S. W. et al. Pollen and ovule development in *Arabidopsis thaliana* under spaceflight conditions//Amer. J. Bot. – 1995b. – 82. – P. 585–595.
18. Kuang A, Popova A, Xiao Y, Musgrave M. E. Pollination and embryo development in *Brassica rapa* L. in microgravity // Internat. J. Plant Sci. – 2000. – 161. – P. 203–211.
19. Kuang A., Musgrave M. E., Matthews S. W. Cytochemical localization of reserves during seed development *Arabidopsis thaliana* under spaceflight conditions//Ann. Bot. – 1996b. – 78. – P. 343–351.
20. Kuang A., Musgrave M. E., Matthews S. W. Modification of reproductive development in *Arabidopsis thaliana* under spaceflight conditions//Planta. – 1996a. –198. – P. 588–594.
21. Musgrave M. E, Kuang A., Xiao Y., et al. Gravity-independence of seed-to-seed cycling//Planta. – 2000. – 210. – P. 400–406.
22. Musgrave M. E., Kuang A., Mattherws S. W. Plant reproduction during spaceflight//Planta. – 1997. – 203. – P. 177-184.
23. Popova A. F., Kuang A., McClure G, Musgrave M. E. Reserve nutrient substance accumulation in *Brassica rapa* seeds in microgravity conditions (STS-87)//Abstr. 23th Internat. Gravit. Physiol. Meet.– 2002. –P. 149.
24. Strickland D. T., Campbell W. F., Salisbury F. B., Bingham G. E. Morphological assessment of reproductive structures of wheat grown on Mir//Gravita Space Biol. Bull. –1997. – 11. – P. 14–21.