

УДК 571.23:576.3:52-423

**В. О. Бриков**

Інститут ботаніки ім. М. Г. Холодного Національної академії наук України, Київ

## БІОЕНЕРГЕТИКА РОСЛИННИХ КЛІТИН В УМОВАХ МІКРОГРАВІТАЦІЇ

---

*Підсумовуються дані про ультраструктуру та функціонування енергетичних органел у клітинах автотрофних та гетеротрофних тканин вищих рослин, що зростали під впливом клиностатування. Показано, що завдяки адаптивним реакціям мітохондрію в гетеротрофних клітинах кореня зберігається енергетичний гомеостаз, підтримка якого в космічному польоті буде залежати від надходження субстратів до окислювального фосфорилування. Встановлено, що при субоптимальному освітленні рослин рівень перебудов ультраструктури хлоропластів був виражений більшою мірою, аніж при оптимальних умовах освітлення. Висунуто припущення, що мікрогравітація посилює негативну дію субоптимальних умов освітлення на основний метаболізм рослинних організмів. Обговорено перспективи подальших досліджень в цій області та деякі прикладні аспекти створення ростових камер для культивування рослин на борту космічних літальних апаратів.*

**Ключові слова:** мітохондрії, дихання, альтернативна оксидаза, хлоропласти, ультраструктура, клиностатування.

---

### ВСТУП

Здатність рослинних організмів до підтримання енергетичного гомеостазу у варіабельних умовах зовнішнього середовища залежить від балансу між запасанням вуглеводів протягом фотосинтезу у хлоропластах та їхньою подальшою утилізацією у процесі дихання мітохондрій. Розщеплення органічних субстратів з поглинанням кисню у процесі окислювального фосфорилування призводить до утворення АТФ, що є основним енергетичним донором більшості ферментативних процесів [17]. В умовах освітлення листків, коли відбувається фотосинтез, дихання мітохондрій майже повністю пригнічене, що сприяє накопиченню крохмалю. За різними даними від 30 до 70 % вуглеводів, синтезованих протягом світлового періоду у фотосинтезі, транспортуються в корінь, де утилізуються в диханні [13]. Крім каталітичної функції окислювального фосфорилування, що полягає у розщепленні органічних субстратів для синтезу АТФ, цикл трикарбонових

кислот мітохондрій виконує анаболічні функції, оскільки він є унікальним місцем утворення вуглецевих скелетів, що використовуються у синтезі білків, нуклеїнових кислот та вторинних метаболітів [20]. Анаболічні функції мітохондрій відіграють важливе значення у тканинах, що ростуть. Особливістю дихання мітохондрій вищих рослин є наявність альтернативної оксидази в електронно-транспортному ланцюзі, активація якої в стресових умовах середовища може суттєво знижувати ефективність синтезу АТФ при диханні, знижуючи інтенсивність ростових процесів [12] та поглинання мінеральних речовин коренем [9]. Тісна інтеграція та взаємозалежність процесів дихання та фотосинтезу визначають метаболічний статус клітин, який є сигналом для зміни експресії ядерного геному шляхом ретроградної регуляції під дією стресових чинників середовища [23].

Дослідження біологічних ефектів реальної мікрогравітації та її моделювання в лабораторних умовах достатньо широко висвітлюють функціонування мітохондрій тварин та людини у зв'язку з очевидними системними порушення-

---

© В. О. БРИКОВ, 2015

ми опорно-рухової, серцево-судинної та імунної систем. В умовах космічного польоту гравітаційне розвантаження викликає порушення енергетики тваринних клітин. Хоча спектр встановлених ефектів достатньо широкий, але більшість досліджень свідчать про інгібування метаболічної активності мітохондрій [25]. Вважається, що в умовах мікрогравітації за рахунок регуляції експресії відповідних ферментів відбувається інгібування метаболічного шляху окислення жирних кислот — енергетичне забезпечення клітин здійснюється в основному за рахунок вуглеводів [2, 27]. У той же час літературні відомості щодо стану мітохондрію вищих рослин в умовах мікрогравітації вкрай обмежені. Дані стосовно ультраструктури органел інколи суперечливі [1, 26]. Про стан окислювального фосфорилування в умовах космічного польоту майже нічого не відомо. Вважається, що при достатній ілюмінації рослин мікрогравітація не впливає на структуру та функції фотосинтетичного апарату рослинних клітин, що було продемонстровано при вирощуванні *Triticum aestivum* в Biomass Production System (BPS) в експерименті PESTO [29]. В той же час при використанні інших культивацийних камер спостерігаються достатньо суттєві перебудови фотосинтетичного апарату [11, 32]. Таким чином, ступінь перебудов мітохондрій та пластид, їхня взаємодія, регуляція енергетичного метаболізму рослинних організмів залишаються не з'ясованими.

Рослини є безальтернативним компонентом біорегенеративних систем життєзабезпечення (БСЖ) у довготривалих космічних місіях [8]. Встановлено, що рослини можуть здійснювати повний життєвий цикл від насіння до насіння в умовах мікрогравітації [3, 16, 30]. Отримання урожаю, тобто накопичення біомаси та насінневої репродукція рослин у першому та наступних поколіннях під час довготривалих космічних польотів потребують експериментальних даних про стан основного метаболізму рослинного організму в умовах мікрогравітації. Формування уявлень про біоенергетику рослинних клітин в умовах мікрогравітації та, що важливо, при можливих флуктуаціях рівня освітлення, вологості, газового складу середовища повинні сприяти

прогнозуванню стану рослинних організмів, їхньої продуктивності та стійкості протягом довготривалого культивування на борту космічних апаратів в майбутньому.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В лабораторних умовах мікрогравітацію моделювали, використовуючи загальноприйнятий метод повільного горизонтального клиностатування з швидкістю обертання осі 2 об/хв. У серії експериментів з дослідження впливу модельованої мікрогравітації використані рослини *Pisum sativum* L. (сорт Альфа). Дослідження стану мітохондрію було проведено в клітинах зародкового кореня етиольованих проростків, для того щоб виключити вплив фотосинтезу та його продуктів, рівень яких залежить від освітлення. Відібрані насінини по одній загортали у трубочки з вологого фільтрувального паперу і вклали у стаканчики, що поміщали у чашки клиностату. Проростки вирощували в темряві при температурі 22—24 °С протягом 5 діб з моменту загортання насіння в трубочки. Для дослідження фотосинтетичного апарату клітин насіння висаджували у чашки клиностату діаметром 9 см, наповнені вермикулітом. Після вкорінення рослин протягом 5 діб чашки поміщали на горизонтальний клиностат у культивацийну камеру на 12 діб при температурі 22—23 °С, вологості повітря 60 %. Щільність потоку квантів фотосинтетично-активної радіації (ФАР) складала 180 та 80 мкмоль · м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, що є відповідно достатніми та субоптимальними умовами для росту росли. В якості джерела освітлення використовували білі люмінесцентні лампи. Фотоперіод складав 16/8 год (день/ніч). Протягом досліду рослини поливали, періодично вносячи рівні кількості дистильованої води в чашки. Крім того, на 1-шу та 6-ту добу вносили ½ р-н Хогланда.

Для електронно-мікроскопічного дослідження відбирали зразки розміром 2×1 мм. Підготовку зразків проводили за стандартним методом [6]. Стикло: фіксація р-ом 2.5 % глютарового альдегіду на 0.15 М кокодилатному буфері (рН 7.4) для листків або на 0.1 М кокодилатному буфері (рН 7.2) для коренів протягом 4 год при температурі 4 °С, відмивання декілька разів бу-

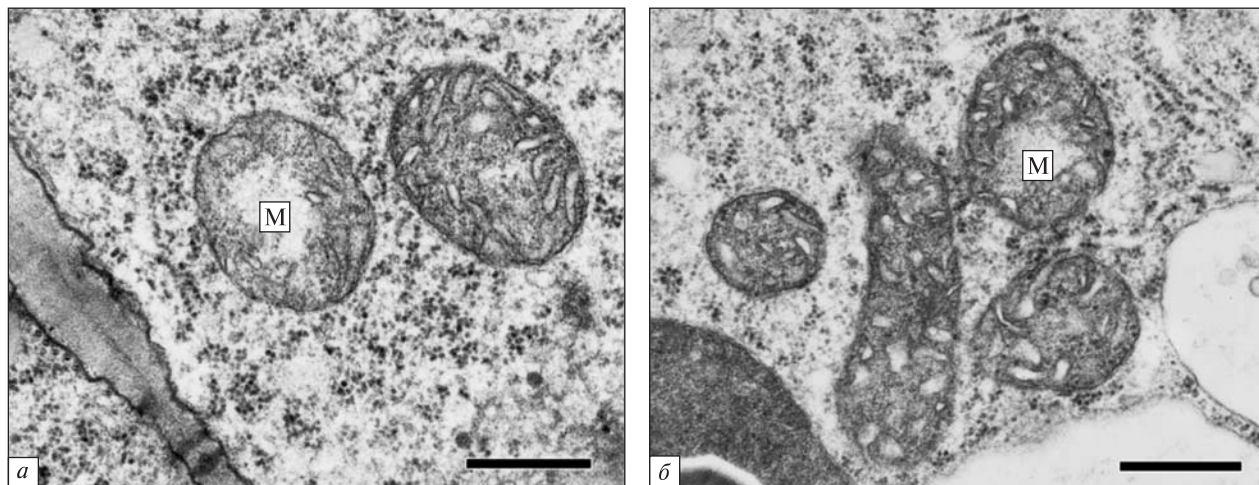


Рис. 1. Фрагменти клітин з мітохондріями (М) у клітинах дистальної зони розтягу 5-добових проростків гороху у стаціонарному контролі (а) та під впливом клиностагування (б)

фером, постфіксація р-ом 1 %  $\text{OsO}_4$  на кокодилатному буфері протягом 12 год, після відмивання р-ом 1 % танінової кислоти протягом 1 год. Зразки зневоднювали у серії спиртів зростаючої концентрації та ацетоні, потім заливали сумішшю епон-аралдит. Ультратонкі зрізи (50 — 70 нм) отримували на ультрамікротомі МТ-XL (RMC) та контрастували уранілу ацетатом і цитратом свинцю. Зразки досліджували на трансмісійних електронних мікроскопах JEM 1200EX та JEM 1230EX (Jeol) та фотографували на плівку Alliance Camera CE (Agfa). Отримані негативні зображення сканували, після чого аналізували площу пластид на зрізах, товщину гран, кількість тилакоїдів у гранах, кількість та розмір крохмальних зерен за допомогою програмного забезпечення Image J (<http://imagej.nih.gov>).

Поглинання кисню кореневими апексами 1-, 3- та 5-добових проростків у контролі та після клиностагування визначали полярографічним методом, використовуючи полярограф Охуграф (Hansatech). Для кожного вимірювання відбирали по 7 корневих апексів розміром 4—6 мм, масою 10—15 мг, які поміщали в інкубаційну камеру приладу об'ємом 1.5 мл з дистильованою водою, що попередньо була насичена киснем, шляхом барботування повітрям протягом 20 хв. Вимірювання швидкості поглинання кореневими апексами кисню з розчину проводили при  $+24^\circ\text{C}$  про-

тягом 12—15 хв, починаючи з 2-ї хв після занурення корневих апексів у воду. В даних часових рамках загальна швидкість поглинання кисню за відсутності інгібіторів була лінійною.

Концентрації інгібіторів були підібрані експериментально. Для інгібування цитохромоксидази використовували 3 мМ KCN. Для інгібування альтернативної оксидази використовували саліцилгідроксамову кислоту (СГК) з діючою концентрацією 3 мМ. Кінцеві концентрації інгібіторів у розчині отримували шляхом внесення відповідних кількостей маточних розчинів концентрацією 0.2М KCN в дистильованій воді та 1М СГК у диметилсульфоксиді.

Із застосуванням інгібіторів визначали потужність альтернативного шляху у диханні або СГК-чутливе, CN-резистентне дихання, як різницю між швидкістю поглинання кисню у присутності KCN та залишковим диханням у присутності KCN та СГК. Рівень залишкового дихання був низьким, його максимальний рівень складав близько 4 % як у контрольних, так і у клиностагованих зразках.

Експресію гену *AOX* визначали в цілих коренях, корневих апексах (6 мм) та з зоні диференціювання 5-добових етиольованих проростків. Загальну РНК зі зразків виділяли з використанням InnuPREP Plant RNA Kit (Analytikjena) згідно з методом, запропонованим виробником.

Визначення кількості, цілісності РНК, зворотну транскрипцію та полімеразну ланцюгову реакцію в реальному часі проводили згідно з методом Талалаєва і Кордюм [31]. В якості внутрішнього контролю використовували ген *ACTIN3* (GenBank: U81049.1), рівень експресії якого є постійним і не залежить від зовнішніх впливів [24]. Нуклеотидні послідовності *AOX* для гороху були взяті з роботи [15]. Дизайн нуклеотидних послідовностей праймерів здійснено у Vector NTI Oligo Design (NCBI EST). Послідовності задіяних праймерів –

*ACTIN3*:

F – CCAAATCATGTTTGAGGCTTTTAA,

R – GTGAAAGAACGGCCTGAATAGC;

*AOX*:

F – AGGTAACCAACCATACGG,

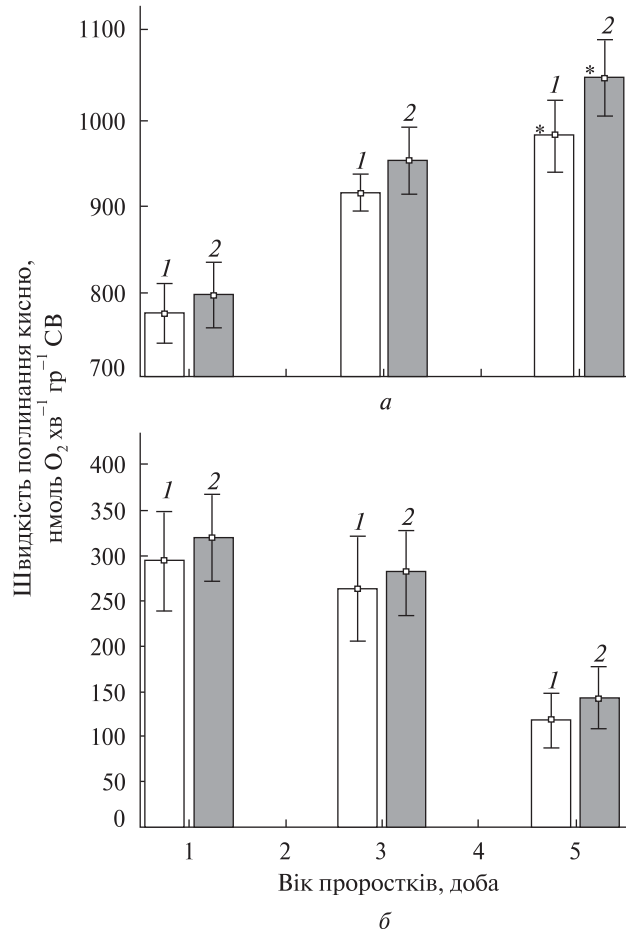
R – TAAGGCGTTGCTAGAAGA.

ПЛР проводили на ампліфікаторі iCycler iQ system (Bio-Rad). Обробку результатів здійснювали за алгоритмом, раніше описаним Pfaffl [19], використовуючи програмне забезпечення Gene Expression (Macro™).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

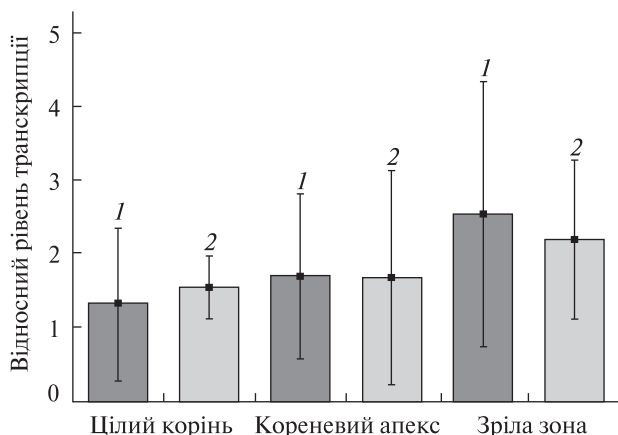
Дослідження ультраструктури мітохондрій в різних ростових зонах кореня показали їхню різну чутливість до дії клиностагування. Найбільш суттєві перебудови ультраструктури відбувалися в дистальній зоні розтягу (ДЗР) (рис. 1). Відмічено зменшення поліморфності мітохондрію, зменшення площі органел на зрізах, збільшення площі крист та електронної щільності матриксу, що загалом характеризуються як помірна конденсація органел. Крім того, раніше ми встановили, що вплив клиностагування на ультраструктуру мітохондрій посилювався зі збільшенням тривалості дії чинника [4]. Ці дані свідчать, що на фазі повільного розтягу клітини в ДЗР, що в нормі володіють найвищим рівнем метаболізму серед всіх ростових зон, зазнають найсуттєвіших перебудов енергетичного метаболізму при дії модельованої мікрогравітації.

Дані стосовно ультраструктури мітохондрій узгоджуються з отриманими даними щодо інтенсивності тканинного дихання кореневих апексів в цих же часових рамках. Протягом клиностагу-



**Рис. 2.** Загальна швидкість дихання (а) та потужність альтернативного шляху дихання (б) кореневих апексів протягом 5 днів росту у стаціонарному контролі (1) та в умовах клиностагування (2). Зірочкою позначено достовірну різницю між значеннями

вання спостерігається тенденція до зростання швидкості поглинання кисню, що на п'яту добу досягає достовірної різниці у 7 % порівняно з таким у стаціонарному контролі (рис. 2, а). Припускається, що зростання дихання пов'язане з активацією процесів окислювального фосфорилування. В той же час зростання дихання коренів в умовах клиностагування могло бути пов'язане з активацією альтернативної оксидази. Відомо, що її індукція на рівні експресії генів, кількості білку або його активності відбувається у відповідь на дію стресових чинників середовища і призводить до роз'єднання окислення та



**Рис. 3.** Відносний рівень експресії *АОХ* у цілих коренях, кореневих апексах та зрілій ділянці коренів 5-добових проростків гороху у стаціонарному контролі (1) та в умовах кліностаування (2)

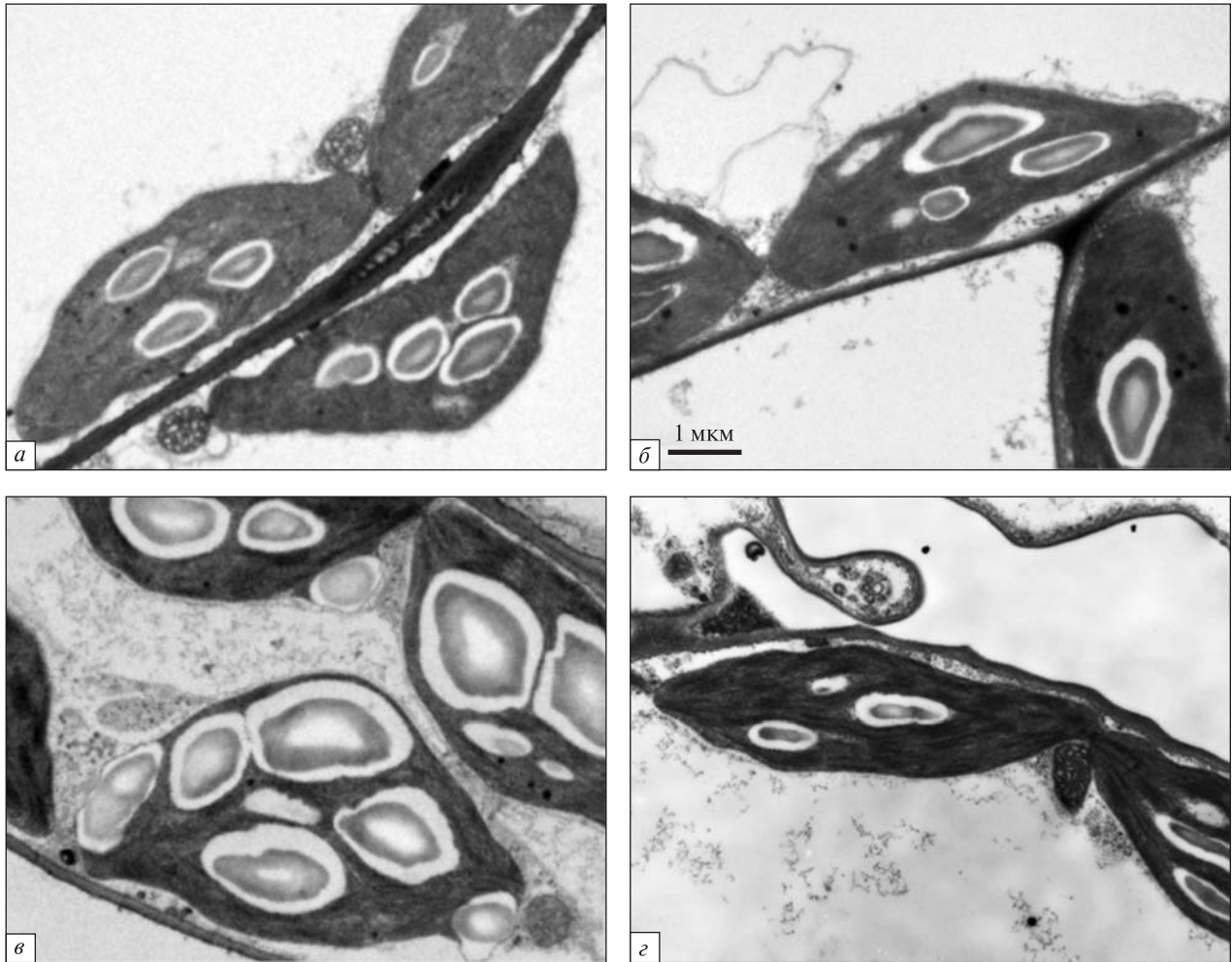
фосфорилування, і тому суттєво знижує ефективність накопичення АТФ [22]. В той же час її основною функцією є захисна, що дозволяє уникнути утворення надмірної кількості активних форм кисню при створенні несприятливих умов для протікання процесів окислювального фосфорилування [22, 33]. Із застосуванням методу інгібіторного аналізу було встановлено, що потужність альтернативного CN-резистентного дихання не змінювалася в умовах кліностаування (рис. 2, б). Крім того, було встановлено, що кількість транскриптів гену *АОХ* як у ростових, так і у зрілих зонах кореня не відрізнялася від такої у стаціонарному контролі (рис. 3).

Таким чином, ми вперше встановили, що зростання швидкості дихання коренів в умовах кліностаування не пов'язане з активацією стрес-індукованої альтернативної оксидази, тобто в умовах мікрогравітації не створюються умови, які б перешкождали діяльності основного енергоефективного цитохромного шляху електронно-транспортного ланцюгу.

Наведені вище дані про ультраструктуру та дихання мітохондрій є інтегральними показниками, дослідженими неінвазивними методами, вказують на здатність мітохондрій до підтримки структурно-функціональної організації мітохондрій близькими до норми. У той же час дослідження метаболічної активності мітохондрій

ізолюваних з коренів 5-добових проростків вказують на суттєві зміни у протіканні процесу окислювального фосфорилування в умовах модельованої мікрогравітації [5]. Було встановлено, що в активному фосфорилуючому стані за Chance [7] швидкість окислення екзогенно доданого малату або НАДН зростала у мітохондріальних фракцій, ізолюваних з коренів рослин, що зазнали впливу кліностаування. Ці дані можуть бути причиною зростання тканинного дихання, описаного вище. Однак припускається, що активація окислювальних процесів не призводить до акумуляції більшої кількості молекул АТФ порівняно з контролем, оскільки відбувається зниження ефективності фосфорилування [5]. Вважається, що саме у відповідь на зниження ефективності фосфорилування відбувається активація окислювальних процесів, що дозволяє підтримати енергетичний гомеостаз клітин кореня в умовах мікрогравітації. Таким чином, ми вважаємо, що в умовах мікрогравітації для забезпечення повноцінного росту зародкового кореня рослин необхідна належна аерація ризосфери, оскільки зростає потреба клітин кореня у кисні. У деяких космічних експериментах з вирощування рослин було встановлено, що метаболізм кореня знаходиться в стані гіпоксії [14, 18, 21]. Відмічено активацію гліколізу та зростання активності та генетичної експресії алкогольдегідрогенази [28]. Вважається, що гіпоксія ризосфери є наслідком біофізичної лімітації доступу кисню внаслідок порушення процесів дифузії за відсутності гравітації [14]. Враховуючи погіршення аерації субстрату та зростання інтернальної потреби клітин кореня до кисню, штучне нагнітання повітря до ризосфери є необхідним для забезпечення нормального перебігу дихання та енергетичного метаболізму в умовах мікрогравітації.

Крім того, зростання окислювальної активності мітохондрій, спрямоване на забезпечення енергетичного гомеостазу клітин кореня, потребує належного надходження вуглеводів для підтримки енергетики клітин кореня. Слід наголосити, що умови вирощування рослинного матеріалу були оптимальними, а в обраній моделі для дослідження — корені етиологованих проростків, вуглецеве живлення клітини кореня



**Рис. 4.** Фрагменти клітин палисадної паренхіми з хлоропластами у стаціонарному контролі (а, б) та за умов клиностатування (б, г) при щільності потоку квантів ФАР 180 мкмоль·м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> (а, б) та 80 мкмоль·м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> (в, г)

забезпечувалося продуктами гідролізу запасних речовин із сім'ядоль. В той же час невідомо, якою буде відповідь мітохондрій кореня на фазі вегетації рослин, де субстратне забезпечення окислювального фосфорилування залежить від умов освітлення, функціональних кондицій фотосинтетичного апарату листків та транспорту поживних речовин між органами рослин.

Результати електронно-мікроскопічного дослідження показали, що загалом ультраструктура клітин палисадної паренхіми як в контролі, так і за умов клиностатування була типовою для клітин мезофілу. Основний об'єм клітини займає центральна вакуоль. Органели знаходяться

у периферійному шарі цитоплазми. Хлоропласти, як правило, лінзовидної форми, їхня строма завжди щільна, насичена великою кількістю тилакоїдних мембран (рис. 4, а, б). Мітохондрії дрібні, округлої форми, інколи дещо видовжені. Відмічено численні контакти між хлоропластами, мітохондріями та пероксисомами. Хлоропласти часто утворюють інвагінації чашовидної форми, де можуть перебувати мітохондрії, або зрідка — ліпідні краплі. Загалом така ультраструктура клітин свідчить про високу функціональну активність клітин мезофілу. При культивуванні рослин при щільності потоку квантів ФАР 180 мкмоль·м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> розмір хлоропластів за

умов клиностатування зменшувався на 15 % відповідно до такого у стаціонарному контролі. Товщина гран також була меншою на 10 % за таку в контролі, що відповідає товщині одного-двох тилакоїдів (таблиця). Кількість і розмір зерен крохмалю не відрізнялися від таких у контролі. Можна зробити висновок, що при достатньому освітленні рослин клиностатування призводить до мінорних змін в ультраструктурі енергетичних органел в клітинах мезофілу. При культивуванні рослин при щільності потоку квантів ФАР 80 мкмоль·м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> спостерігаються більш суттєві відмінності ультраструктур хлоропластів мезофілу у рослин, що зростали в умовах клиностатування (рис. 4, в, з). Розмір хлоропластів зменшувався на 24 %, розмір крохмальних зерен — на 63 % (таблиця). Товщина гран також була меншою при клиностатуванні на 13 %. Крім того, зростала варіативність форми мітохондрій на зрізах. Найбільш цікавим виявився той факт, що при зниженні щільності потоку квантів ФАР з 180 на 80 мкмоль·м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> в стаціонарному контролі спостерігається чітка реакція хлоропластів, що полягала у збільшенні їхніх розмірів, тоді як в умовах клиностатування не відбувалося подібної відповіді фотосинтетичного апарату.

Таким чином, в умовах клиностатування не було відповіді хлоропластів на зміну щільності потоку квантів ФАР, що, на нашу думку, може мати негативний вплив на функціонування органел.

Згідно із висновками роботи [34] у більшості експериментів [10, 11, 32] з культивування рос-

лин в умовах реальної мікрогравітації у космічному польоті в ростових камерах не були забезпечені оптимальні умови середовища — надмірний рівень вологості субстрату та флуктуації температури, накопичення етилену, а виявлені порушення у структурно-функціональній організації хлоропластів викликані не впливом мікрогравітації, а негативною дією факторів середовища, підтримка яких в умовах космічного польоту не завжди була задовільною. Аналіз літературних даних про стан фотосинтетичного апарату, газообміну, накопичення біомаси рослинами показує їхню різну відповідь на дію мікрогравітації, що залежить від рівня освітлення в умовах комічного польоту. На проростках *Triticum aestivum* при щільності потоку квантів ФАР 280 мкмоль·м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup> протягом 24 діб відбувалося незначне зменшення товщини листкової пластинки та щільності розміщення тилакоїдів у гранах, тоді як інтенсивність фотосинтетичних процесів, кількість крохмалю, розчинних вуглеводів та сухої маси проростків не змінювалася [29]. Аналіз рослин польотного матеріалу, який перебував протягом 14 діб в умовах мікрогравітації при щільності потоку квантів ФАР 100 мкмоль·м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>, показав, що у проростків *Brassica rapa* відбувалося суттєве зниження кількості комплексів фотосистеми I (ФСІ) та її активності в тилакоїдних мембранах. Крім того, на 32 % знижувалася активність водо-окислювального субкомплексу фотосистеми II (ФСІІ), що свідчить про його дисфункцію [10]. Припускається, що суттєві порушення в ЕТЛ хлоропластів, викликані перебуванням в

#### Кількісні показники ультраструктури хлоропластів мезофілу гороху за різного рівня щільності потоку квантів ФАР в умовах клиностатування

Варіант досліду	Площа хлоропластів, мкм <sup>2</sup>	Товщина гран, мкм	Площа крохмальних зерен, мкм <sup>2</sup>	Кількість крохмальних зерен / хлоропласт
180 мкмоль·м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>				
контроль	7.5 ± 0.20 <sup>a</sup> (n = 224)	0.21 ± 0.005 <sup>a</sup> (n = 206)	0.22 ± 0.015 <sup>a</sup> (n = 143)	2.4 ± 0.13 <sup>a</sup> (n = 65)
клиностат	6.2 ± 0.17 <sup>b</sup> (n = 190)	0.19 ± 0.008 <sup>b</sup> (n = 62)	0.23 ± 0.013 <sup>a</sup> (n = 146)	2.4 ± 0.12 <sup>a</sup> (n = 153)
80 мкмоль·м <sup>-2</sup> с <sup>-1</sup>				
контроль	8.6 ± 0.32 <sup>a</sup> (n = 90)	0.22 ± 0.008 <sup>a</sup> (n = 151)	0.51 ± 0.042 <sup>b</sup> (n = 78)	3.1 ± 0.18 <sup>b</sup> (n = 64)
клиностат	6.6 ± 0.25 <sup>b</sup> (n = 92)	0.19 ± 0.005 <sup>b</sup> (n = 272)	0.19 ± 0.015 <sup>a</sup> (n = 65)	2.3 ± 0.21 <sup>a</sup> (n = 64)

Примітка. Дані наведені в формі  $M \pm SE$ ,  $n$  — кількість значень у вибірці. Незалежно в кожній колонці різними буквами вказані достовірні відмінності між значеннями ( $p \leq 0.05$ ).

умовах космічного польоту, компенсуються перерозподілом вмісту пігментів (співвідношення хлорофілів *a/b*) на користь хлорофілу *a* [10]. Ще більш виражений негативний ефект, що полягав у зниженні сирової маси проростків на 25 %, зниженні активності електронного транспорту через ФСІ та ФСІІ на 28 %, зростанні швидкості темного дихання порівняно з такими у контролі протягом 10-добового культивування проростків *Triticum aestivum* в умовах космічного польоту [32]. В наведених експериментах ступінь виявлених негативних ефектів обернено залежала від тривалості дії мікрогравітації — найсуттєвіші порушення спостерігалися при короткій експозиції рослин в умовах космічного польоту.

Таким чином, у наведених дослідях рівень впливу мікрогравітації на фотосинтетичний апарат, який відповідає за вуглеводневе живлення, залежав не стільки від строку дії мікрогравітації, скільки від рівня ілюмінації рослин. На основі отриманих результатів та аналізу літературних даних ми висуваємо припущення, що мікрогравітація посилює негативну дію субоптимальних умов середовища (освітлення та, не виключено, температури, вологості,  $\text{CO}_2$ ) на основний метаболізм рослинних організмів.

У сучасних культивувальних камерах (для прикладу ВРС) при достатній щільності потоку квантів ФАР  $280 \text{ мкмоль} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ , та рівні  $\text{CO}_2$ , що у чотири рази перевищує такий в атмосфері Землі, вентиляцією ризосфери, використанням скрубів етилену вдається зберегти показники росту рослин, показники фотосинтезу та накопичення асимілятів близькими до наземних на посадковій площі  $0.0264 \text{ м}^2$ , при висоті камери в 16 см [29]. Проте загальна кількість отриманої біомаси та синтезованого кисню протягом вегетації були незначними. Чи можна забезпечити подібні параметри освітлення культивувального модуля площею в  $1 \text{ м}^2$  при висоті камери в 60 см та ізолювати її від атмосфери космічного апарата? На наш погляд урожай, отриманий на такій площі, буде не адекватним затраченим ресурсам. У той же час зниження рівня освітлення та рівня  $\text{CO}_2$  в ростових камерах, як показано вище, викликає порушення у вуглеводневому живленні рослин.

Таке протиріччя, що виникає при розробці культивувальних модулів, потрібно подолати шляхом визначення мінімальних значень параметрів, достатніх для задоволення енергетичних потреб рослин, що реалізуються у накопиченні біомаси. З'ясування адаптивних перебудов енергетичного метаболізму, меж стійкості рослин в умовах мікрогравітації дозволять мінімізувати ресурси, витрачені на обслуговування життєдіяльності рослинних організмів у БСЖ.

*Автор вдячний фахівцям Центру колективного користування приладами ГЕНТЕСТ, що функціонує на базі ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за сприяння молекулярним дослідженням.*

*Робота виконана в рамках проекту «Біоенергетика рослинних клітин в умовах мікрогравітації» Цільової комплексної програми НАН України з наукових космічних досліджень.*

1. Климчук Д. О. Структурно-функціональні особливості мітохондрій в статочитах коренів сої за умов мікрогравітації // Цитология и генетика. — 2007. — 4. — С. 30—35.
2. Baldwin K. M., Herrick R. E., McCue S. A. Substrate oxidation capacity in rodent skeletal muscle: effects of exposure to zero gravity // J. Appl. Physiol. — 1993. — 75. — P. 2466—2470.
3. Bingham G. E., Levinskikh M. A., Sytchev V. N. Effects of gravity on plant growth // J. Gravit. Physiol. — 2000 — 7. — P. 5—8.
4. Brykov V. Clinorotation affects the ultrastructure of pea root mitochondria // Micrograv. Sci. Technol. — 2011. — 23. — P. 215—219.
5. Brykov V. O., Shugaev A. G., Generozova I. P. Ultrastructure and metabolic activity of pea mitochondria under clinorotation // Cytology and Genetics. — 2012. — 46. — P. 144—149.
6. Carde J.-P. Electron microscopy of plant cell membranes // Methods Enzymol. / Eds L. Packer, R. Douce. — New York: Academic Press Inc., 1987. — 148. — P. 599—622.
7. Chance B., Williams G. R. The respiratory chain and oxidative phosphorylation // Adv. Enzymol. — 1956. — 17. — P. 65—134.
8. Ferl R., Wheeler R., Levine H. G., et al. Plants in space // Curr. Opin. Plant Biol. — 2002. — 5. — P. 258—263.
9. Jeong J., Guerinota M. L. Homing in on iron homeostasis in plants // Trends Plant Sci. — 2009. — 14. — P. 280—285.



10. Jiao S. X., Hilaire E., Paulsen A. G., et al. *Brassica rapa* plants adapted to microgravity with reduced photosystem I and its photochemical activity // *Physiol. plant.* — 2004. — **122**. — P. 281–291.
11. Kochubey S. M., Adamchuk N. I., Kordyum E. L., et al. Microgravity effects the photosynthetic apparatus of *Brassica rapa* L. // *Plant Biosystems.* — 2004. — **138**. — P. 1–9.
12. Lambers H. Respiration in intact plant tissues: its regulation and dependence on environmental factors, metabolism and invading organisms // *Higher Plant Cell Respiration* / Eds R. Douce, D. A. Day. — Berlin: Springer, 1985. — **18**. — P. 202–247.
13. Lambers H., Scheurwater I., Atkin O. K. Respiratory patterns in roots in relation to their functioning // *Plant Roots: The Hidden Half* / Eds Y. Waisel, A. Eshel, V. Kafkaki. — New York: Marcel Dekker, 1996. — P. 323–362.
14. Liao J., Liu G., Monje O., Stutte G. W., et al. Induction of hypoxic root metabolism results from physical limitations in O<sub>2</sub> bioavailability in microgravity // *Adv. Space Res.* — 2004. — **34**. — P. 1579–1584.
15. Malecka A., Derba-Maceluch M., Kaczorowska K., et al. Reactive oxygen species production and antioxidative defense system in pea root tissues treated with lead ions: mitochondrial and peroxisomal level // *Acta Physiol. Plant.* — 2009. — **31**. — P. 1065–1075.
16. Merkys A. J., Laurinavičius R. S., Švegždienė D. V. Plant growth, development and embryogenesis during Salyut-7 flight // *Adv. Space Res.* — 1984. — **4**. — P. 55–63.
17. Millar A. H., Whelan J., Soole K. L., et al. Organization and regulation of mitochondrial respiration in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* — 2011. — **62**. — P. 79–104.
18. Paul A.-L., Wheeler R. M., Levine H. G., et al. Fundamental plant biology enabled by the space shuttle // *Amer. J. Bot.* — 2013. — **100**. — P. 226–234.
19. Pfaffl M. W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR // *Nucl. Acids Res.* — 2000. — **29**. — P. e45.
20. Plaxton W. C., Podestá E. F. The functional organization and control of plant respiration // *Crit. Rev. Plant. Sci.* — 2006. — **25**. — P. 159–198.
21. Porterfield D. M. The biophysical limitations in physiological transport and exchange in plants grown in microgravity // *J. Plant Growth Regul.* — 2002. — **21**. — P. 177–190.
22. Rasmusson A. G., Möller I. M. Mitochondrial electron transport and plant stress // *Adv. Plant Biol.* — 2011. — **1**. — P. 357–381.
23. Rhoads D. M., Subbaiah C. C. Mitochondrial retrograde regulation in plants // *Mitochondrion.* — 2007. — **7**. — P. 177–194.
24. Saha G. C., Vandemark G. J. Evaluation of expression stability of candidate reference genes among green and yellow pea cultivars (*Pisum sativum* L.) subjected to abiotic and biotic stress // *Amer. J. Plant Sci.* — 2012. — **3**. — P. 235–242.
25. Shenkman B. S., Nemirovskaya T. L., Belozeroва I. N., et al. Mitochondrial adaptations in skeletal muscle cells in mammals exposed to gravitational unloading // *J. Grav. Physiol.* — 2002. — **9**. — P. 159–162.
26. Slocum R. D., Gaynor J. J., Galston A. W. Cytological and ultrastructural studies on root tissues // *Ann. Bot.* — 1984. — **54**. — P. 65–76.
27. Stein T. P., Schlutera M. D., Galante A. T., et al. Energy metabolism pathways in rat muscle under conditions of simulated microgravity // *J. Nutr. Biochem.* — 2002. — **13**. — P. 471–478.
28. Stout S. C., Porterfield D. M., Briarty L. G., et al. Evidence of root zone hypoxia in *Brassica rapa* L. grown in microgravity // *Int. J. Plant Sci.* — 2001. — **162**. — P. 249–255.
29. Stutte G. W., Monje O., Hatfield R. D., et al. Microgravity effects on leaf morphology, cell structure, carbon metabolism and mRNA expression of dwarf wheat // *Planta.* — 2006. — **224**. — P. 1038–1049.
30. Sychev V. N., Levinskikh M. A., Gostinsky S. A., et al. Spaceflight effects on consecutive generations of peas grown onboard the Russian segment of the International Space Station // *Acta Astronaut.* — 2007. — **60**. — P. 426–432.
31. Talalaiev O., Kordyum E. Expression of small heat shock protein (sHSP) genes in the garden pea (*Pisum sativum*) under slow horizontal clinorotation // *Plant Signaling and Behavior.* — 2014. — **9**. — Published online: 30 Apr 2014.
32. Tripathy B. C., Brown C. S., Levine H. G., et al. Growth and photosynthetic responses of wheat plants grown in space // *Plant Physiol.* — 1996. — **110**. — P. 801–806.
33. Van Aken O., Giraud E., Clifton R., et al. Alternative oxidase: a target and regulator of stress responses // *Physiol. plant.* — 2009. — **137**. — P. 354–361.
34. Wolff S. A., Coelho L. H., Zabrodina M., et al. Plant mineral nutrition, gas exchange and photosynthesis in space: A review // *Adv. Space Res.* — 2013. — **51**. — P. 465–475.

Стаття надійшла до редакції 14.01.15

*В. А. Бриков*

Институт ботаники им. М. Г. Холодного  
Национальной академии наук Украины, Киев

#### БИОЭНЕРГЕТИКА РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ МИКРОГРАВИТАЦИИ

Суммируются данные об ультраструктуре и функционировании энергетических органелл в клетках автотрофных та гетеротрофных тканей высших растений, которые произрастали под влиянием клиностатирования. Показано, что благодаря адаптивным реакциям митохондрия в гетеротрофных клетках корня сохраняется энергетический гомеостаз, поддержка которого в космическом полете будет зависеть от поступления субстратов к окислительному фосфорилированию. Установлено, что при субоптимальном освещении растений уровень перестройки ультраструктуры хлоропластов был выражен сильнее, чем при оптимальных условиях освещения. Выдвинуто предположение, что микрогравитация усиливает отрицательное действие субоптимальных условий освещения на основной метаболизм растительных организмов. Обсуждаются перспективы дальнейших исследований в этой области и некоторые прикладные аспекты создания ростовых камер для культивирования растений на борту космических летательных аппаратов.

**Ключевые слова:** митохондрии, дыхание, альтернативная оксидаза, хлоропласты, ультраструктура.

*V. O. Brykov*

M. G. Kholodnyj Institute of Botany  
of National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

#### BIOENERGETICS OF PLANT CELLS IN MICROGRAVITY

This paper summarizes the data on the ultrastructure and functioning of energy organelles in cells of autotrophic and heterotrophic tissues of higher plants that grow under the influence of clinorotation. It is shown that due to the adaptive reactions in mitochondria the energy homeostasis is retained in heterotrophic root cells, and its support under microgravity conditions will depend on the flow of substrates to the oxidative phosphorylation. It was established that the level of alterations in chloroplast ultrastructure under suboptimal light conditions was pronounced to a greater extent than under optimal light conditions. Based on the results, we suggest that the microgravity increases the negative effects of suboptimal lighting conditions in the primary metabolism of plants.

**Key words:** mitochondria, respiration, alternative oxidase, chloroplasts, ultrastructure, clinorotation.