

Л. Т. Міщенко, Л. І. Остапченко, А. А. Дуніч, О. І. Данілова

Вплив умов космічного польоту на продуктивність рослин томатів та їх стійкість до вірусів

(Представлено академіком НАН України В. С. Підгорським)

Встановлено, що фактори космічного польоту підвищують продуктивність томатів, концентрацію каротиноїдів у плодах (β -каротину та лікопіну), що має велике значення для застосування цих рослин як продукту харчування космонавтів у довготривалих космічних місіях. Показано, що рослини, вирощені з насіння, яке перебувало у космосі, більш стійкі до інфікування вірусами та характеризуються підвищеним вмістом поліфенолів.

Стійкість до біотичних і абіотичних факторів — одна з основних вимог, які висуваються до сучасних сортів сільськогосподарських культур та технологій їх вирощування. Для багатьох з них питання комплексної стійкості до стресових факторів досі залишається невирішеним, у зв'язку з чим для отримання задовільної врожайності доводиться застосовувати хімічні засоби захисту рослин. Ця проблема особливо актуальна для томатів, плоди яких широко використовуються у дієтичному харчуванні дітей та дорослих. Тому застосування хімічних засобів захисту цих рослин від хвороб повинно бути обмеженим. Однак в Україні вірусні інфекції томатів можуть призводити до істотного зниження врожаїв. Все це зумовлює необхідність пошуку максимально екологічних методів та засобів, які знижують втрати і стабілізують продуктивність рослин томатів.

Індукована стійкість, яка використовує природні захисні функції рослин, є альтернативним, нестандартним та екологічно безпечним методом захисту рослин. Раніше було встановлено, що в умовах модельованої мікрогравітації може відбуватися елімінація вірусної інфекції, як це виявлено нами для системи “вірус смугастої мозаїки пшениці–пшениця” [1]. Також відомо, що фізичні умови космічного польоту можуть діяти як стресори, і стрес, який вони викликають, сприяє реактивації латентних вірусів герпесу людини [2]. Вірусні інфекції рослин, які теж можуть перебувати в латентному стані на певній стадії розвитку рослинного організму, спричиняють значну шкоду росту і розвитку хазяїна. Таким чином, в умовах мікрогравітації може виникати і діяти природний механізм захисту рослини від пошкоджуючих факторів, у тому числі і фітовірусної інфекції.

Томати є продуктом раціону космонавтів, який є важливою ланкою їх життєзабезпечення — регенерації газового середовища (фотосинтез), фактором психологічної релаксації людей та потужним антиоксидантом. Але використання рослин для життєзабезпечення довготривалих космічних польотів висуває декілька проблем — це адаптація їх до умов гравітації, а також смакові якості [3]. Так, у 2007 р. насіння томатів, генетично створене вченими з Державного університету Північної Кароліни, було розміщене на Міжнародній космічній станції. Але експеримент не вдався, оскільки розсада загинула [4]. Хоча дослідники й не пов'язують цей факт із впливом мікрогравітації на рослини, очевидно, що вивчення даного фактора на рослини досить важливе. Тому дослідження впливу умов космічного польоту на різні види рослин продовжується.

© Л. Т. Міщенко, Л. І. Остапченко, А. А. Дуніч, О. І. Данілова, 2013

Мета дослідження полягала у вивченні впливу умов космічного польоту на продуктивність томатів та їх стійкість до вірусної інфекції.

Матеріали та методи дослідження. У дослідженні використано насіння рослин томатів (*Lycopersicon esculentum* Mill., сорт Підмосковний ранній), що 6 років (1992–1998 рр.) перебувало в умовах довготривалого космічного польоту на Російській космічній станції “Мир”. Насіння пророщували навесні 2011 р. в земних польових умовах на природному інфекційному фоні. Для досліджень у 2011 р. були відібрані томати 1-го та 5-го поколінь, а у 2012 р. — 2-го та 6-го відповідно. У роботі застосовували два контролю: № 1 (стаціонарний) — рослини 1-го і 2-го поколінь, насіння яких не перебувало в космосі; № 2 — рослини з насіння 5-ї та 6-ї репродукцій, що перебувало в умовах космічного польоту, які вирощувалися паралельно в однакових умовах із досліджуваними рослинами.

Вміст β -каротину і лікопіну визначали спектрофотометрично (“Mapada UV-1600”, КНР) при довжинах хвиль 451 і 503 нм з використанням гексану [5, с. 106–107]. Вміст антигенів вірусів встановлювали методом ELISA, застосовуючи реагенти Loewe (Німеччина). Результати продукту ферментативної реакції реєстрували на рідері Termo Labsystems Opsis MR (США) із програмним забезпеченням Dynex Revelation Quicklink при довжинах хвиль 405/630 нм [6].

Морфологію вірусів досліджували за допомогою електронної мікроскопії (ЕМ) з використанням електронного мікроскопа JEM 1230 (JEOL, Японія). Препарати для ЕМ готували методом негативного контрастування [7].

Вміст фенольних сполук у плодах томатів визначали за методикою [8] на спектрофотометрі КФК-3-0,1 при довжині хвилі 640 нм. Достовірність різниць між групами оцінювали за критерієм Стьюдента.

Результати дослідження та їх аналіз. Наші дослідження показали, що маса плодів однієї рослини томатів, насіння яких перебувало за умов тривалого космічного польоту, була на 30% вищою, ніж у стаціонарному контролі. Крім того, у досліджуваних томатів краще розвинена коренева система (на 20%) і надземна частина (кількість пагонів більше на 23%) при $p < 0,05$.

Аналогічні результати отримали вчені з Китаю, які пророщували насіння зеленого перцю, що перебувало в умовах космічного польоту. Вони виявили, що у досліджуваних зразках висота рослин, діаметр, маса і кількість плодів були більшими порівняно з контролем [9]. Відомо, що на об’єкти, які перебувають у космосі, діє багато факторів, таких як мікрогравітація, радіація тощо. Отримані нами дані дають можливість припустити, що морфологічні відмінності можуть бути викликані змінами ендогенних регуляторів росту або пов’язані зі змінами в структурі шару епідермісу насіння, як це було виявлено вченими із США [10]. За їх даними, епідермальний шар насіння томатів, яке перебувало в умовах довготривалого космічного польоту, мав більше пор, ніж стаціонарні зразки. Крім того, “космічне” насіння містило підвищену концентрацію магнію, фосфору та сірки [10]. Також деякими дослідниками показано, що довготривалий космічний політ викликає деструкцію клітин проростків томатів та зміни на субклітинному рівні (у формі клітин, хлоропластах, крохмальних зернах тощо) [11].

На наступному етапі досліджень вивчали вплив факторів космічного польоту на кількісний вміст каротиноїдів у плодах томатів: β -каротину та лікопіну. Відомо, що ці два каротиноїди цінні як для розвитку самих рослин (активність фотосинтетичного апарату, фотопротекція тощо), так і для організму людини (попередники вітаміну А, потужні антиоксиданти, сприяють продукції статевих гормонів, знижують ризик онкологічних та респі-

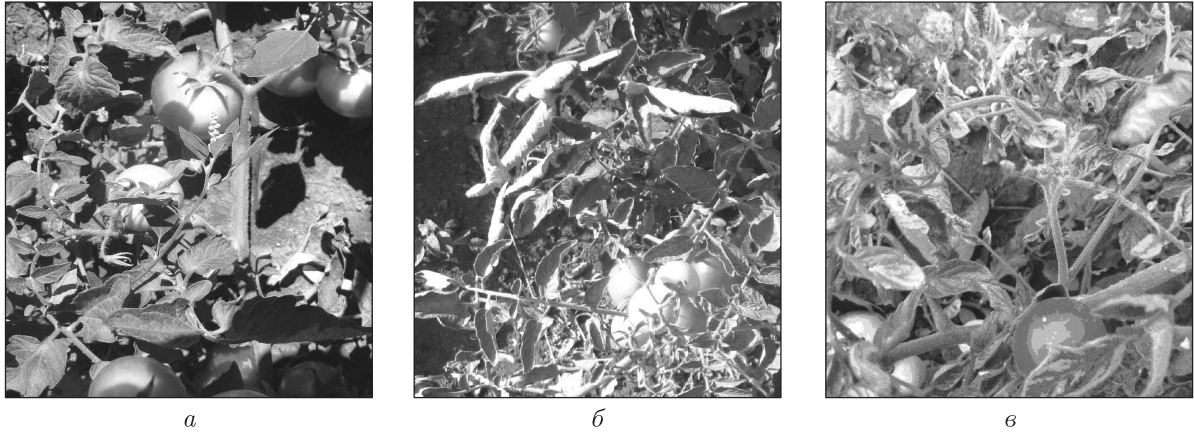


Рис. 1. Рослини томатів сорту Підмосковний ранній: *a* — вирощені з насіння, яке перебувало в умовах космічного польоту; *б* — контроль № 1 (стаціонарний); *в* — контроль № 2

раторних захворювань тощо) [12]. Аналіз отриманих даних показав, що у плодах томатів, насіння яких перебувало в умовах реального космічного польоту, концентрація пігментів більша порівняно зі стаціонарним контролем: β -каротину — в 1,3 раза (на 33%), лікопіну — в 1,8 раза (на 80%) (табл. 1).

Аналогічні результати отримали дослідники з Італії. Ними встановлено збільшення концентрації каротиноїдів у деяких водоростях, які експонувалися в умовах космічного польоту. Варто відзначити, що вміст каротиноїдів вивчався лише в кількох видах рослин, які піддавалися умовам реальної мікрогравітації, наприклад руколі (сума каротиноїдів у проростках зменшувалася) та томатах (концентрація лікопіну збільшувалася) [3, 13].

Нашу увагу привернув до себе той факт, що найменший вміст пігментів був у рослинах з насіння 5-ї репродукції: порівняно зі стаціонарним контролем — у 1,7 раза (каротин) і в 2,3 раза (лікопін); порівняно з рослинами, насіння яких зазнало умов космічного польоту, — в 2,3 і 4,1 раза відповідно (див. табл. 1). Оскільки рослини вирощували в польових умовах, існувала висока вірогідність їхнього ураження патогенами різної природи, в тому числі й вірусами. У роботах багатьох дослідників доведено зниження концентрації каротину і лікопіну в томатах при ураженні їх вірусами [14]. Крім того, на контрольних рослинах спостерігалися симптоми, характерні для таких, що викликає вірусна інфекція, а саме: у 2011 р. — скручування листків типу “човник вгору” (рис. 1, *б*), у 2012 р. — крім скручування листків ще й мозаїка (рис. 1, *в*). На відміну від контрольних, на рослинах з “космічного” насіння жодних симптомів захворювання не виявлено (див. рис. 1, *а*).

Тому актуальним було протестувати досліджувані та контрольні рослини на наявність вірусних антигенів з метою вивчення впливу умов космічного польоту на чутливість рослин до вірусної інфекції. Результати імуноферментного аналізу (ІФА) в 2011 р. показали, що рослини, насіння яких піддавали умовам космічного польоту, не уражені вірусами, а рос-

Таблиця 1. Вміст каротиноїдів у плодах томатів, мг/100 г сирової речовини, $p < 0,01$

Варіант	β -каротин	Лікопін
Дослід	232,3 ± 13	886,6 ± 18
Контроль № 1 (стаціонарний)	174,2 ± 9	493,0 ± 15
Контроль № 2 (5-те покоління)	102,8 ± 5	217,2 ± 12

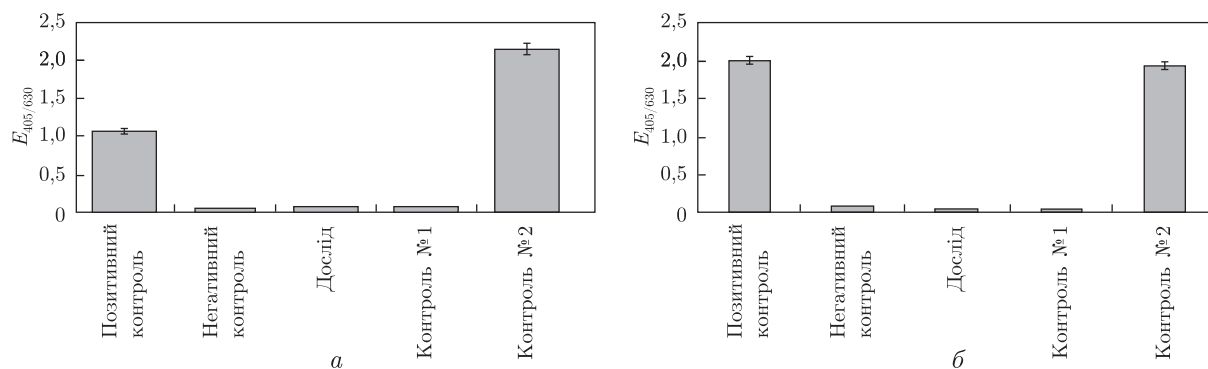


Рис. 2. Вміст вірусних антигенів у рослинах томатів (2011 р.): а – YVK; б – MBK

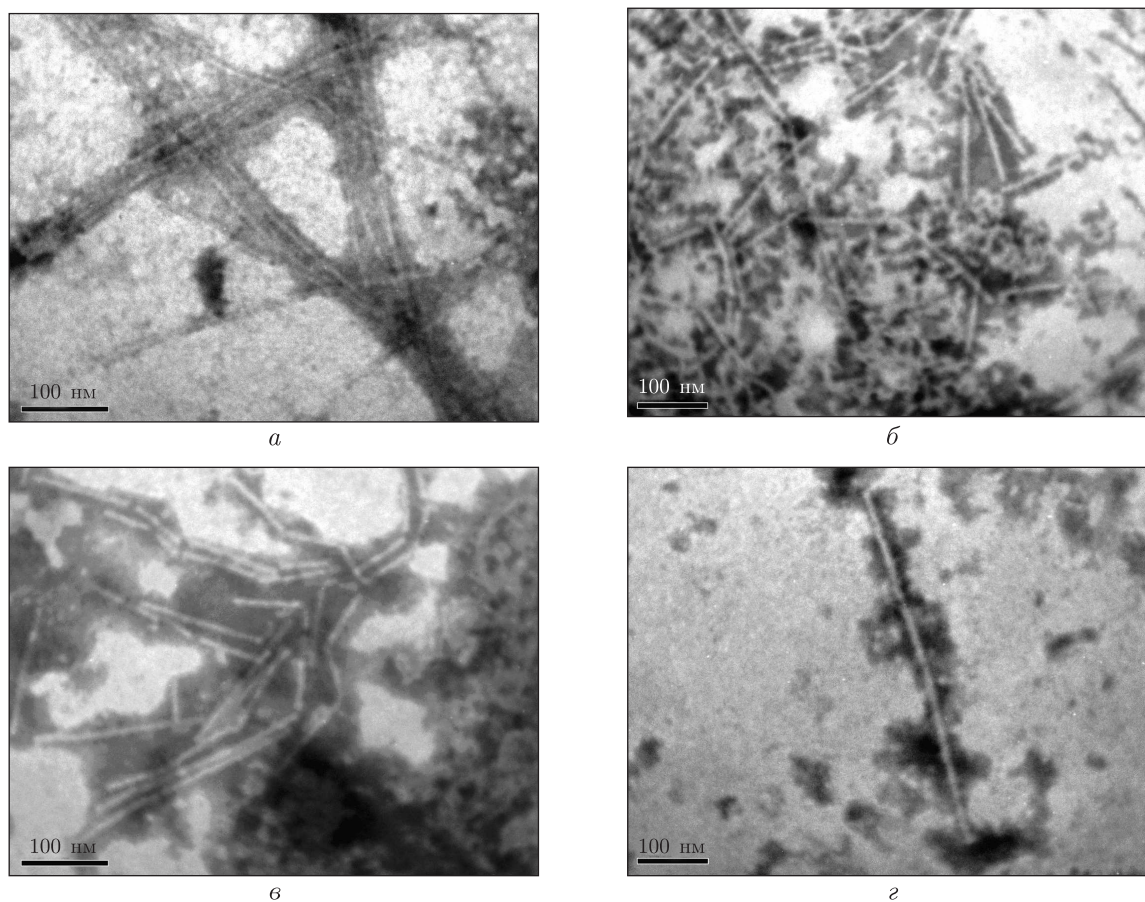


Рис. 3. Електроннограма віріонів у томатах: а – YVK (контроль № 2, 2011 р.); б – контроль № 2 (2012 р.); в – контроль № 1, стаціонарний (2012 р.); з – дослідні рослини (2012 р.)

лини 5-го покоління, тобто ті, що пройшли п'ять репродуктивних фаз у земних польових умовах, в 67% випадків уражені М-вірусом картоплі (МVK) та Y-вірусом картоплі (YVK) (рис. 2).

Дані ІФА були підтверджені методом ЕМ (рис. 3, а). У 2012 р. у томатах нами були виявлені, крім вищеназваних, паличкоподібні віруси (рис. 3, б-з). Ідентифікація цих

вірусів триває, але варто відзначити, що тенденція до ураження вірусами залишилася незмінною. Так, у “польотних” рослинах томатів 6-го покоління виявлено високу концентрацію вірусів, на відміну від рослин 2-го покоління, у яких знайдено лише поодинокі віріони (див. рис. 3, з). Ймовірно, рослини 5-го і 6-го поколінь внаслідок свого тривалого вирощування в земних умовах могли втратити викликану космічними факторами стійкість до інфікування вірусами.

У зв'язку з цим у 2012 р. ми продовжили вивчення впливу космічних факторів на здатність рослин до інфікування вірусами. Дослідження були спрямовані на визначення кількісного вмісту фенольних сполук. Цей вибір пояснюється тим, що поліфеноли відіграють важливу роль у регуляції росту рослинної тканини та її стійкості до інфекцій. Згідно з одержаними даними, вміст поліфенольних сполук найвищий в плодах томатів, які вирощені з “космічного” насіння (122 мг/100 г). У стаціонарному контролі даний показник становив 114 мг/100 г, у контролі № 2 — 84 мг/100 г ($p < 0,01$).

Численними дослідженнями доведено, що більша кількість фенольних сполук токсична для різноманітних збудників хвороб, у тому числі й вірусів. Встановлено, що у відповідь на інфекцію вміст поліфенолів зростає, причому тим сильніше, чим вищою є стійкість рослин до патогенів [15]. Тобто фактори космічного польоту підвищують стійкість до інфікування вірусами, про що свідчать дані зовнішньої симптоматики, ІФА, ЕМ, згідно з якими, на відміну від контролів, рослини з “космічного” насіння 1-ї–2-ї репродукції менше уражуються або взагалі не інфікуються вірусами, що можна пояснити підвищеним вмістом у них поліфенольних сполук.

Таким чином, нами встановлено, що фактори космічного польоту істотно впливають на рослини томатів. По-перше, підвищується продуктивність рослин, зростає концентрація каротиноїдів у плодах (β -каротину та лікопіну), що має велике значення для застосування цих рослин як продукту харчування космонавтів у довготривалих космічних місіях. По-друге, рослини, вирощені з насіння, яке перебувало в космосі, стійкі до інфікування вірусами та характеризуються підвищеним вмістом поліфенолів, незважаючи на довготривале зберігання в стані спокою.

1. *Mishchenko L. T., Ostapchenko L. I., Filenko O. M., Boyko A. L.* Clinostating effects on Apogee wheat resistance to wheat streak mosaic virus // *J. Gravitat. Physiol.* – 2004. – **11**, No 1. – P. 235–236.
2. *Mehta S. K., Pierson D. L.* Reactivation of latent herpes viruses in cosmonauts during a Soyuz taxi mission // *Microgravity sci. technol.* – 2007. – **19**, No 5–6. – P. 215–218.
3. *Colla G., Battistelli A., Proietti S. et al.* Rocket seedling production on the international space station: growth and nutritional properties // *Ibid.* – 2007. – **19**, No 5–6. – P. 118–121.
4. *Khodakovskaya M.* <http://www.cals.ncsu.edu/agcomm/magazine/fall07/seeds.html>.
5. *Методи биохимического исследования растений* / Под ред. А. И. Ермакова. – Ленинград: Агропромиздат, 1987. – 430 с.
6. *Clark M. F., Adams A. M.* Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses // *J. Gen. Virology.* – 1977. – **34**, No 2. – P. 475–483.
7. *Салига Ю. Т., Снітинський В. В.* Електронна мікроскопія біологічних об'єктів. – Львів, 1999. – 152 с.
8. *Кондратенко П. В., Шевчук Л. М., Левчук Л. М.* Методика оцінки якості плодово-ягідної продукції. – Київ: СПД “Жителів С.І.”, 2008. – 80 с.
9. *Jiyuan L., Zhenye Q., Yongcheng S. et al.* Seed growth experiments after space flight: the Chinese experience // *Seminars of the United Nations Programme on Space Applications.* – Vienna, 1999. – P. 71–74.
10. *Hammond E. C. Jr, Bridgers K., Berry F. D.* Germination, growth rates, and electron microscope analysis of tomato seeds flown on the LDEF // *Radiat. Meas.* – 1996. – **26**, No 6. – P. 851–61.

11. Ли Д., Хуаи Ш., Пан Ю. и др. Влияние условий длительности космического полета на субклеточную морфологию и активность защитных ферментов у проростков томатов, выращенных на Земле из семян, экспонированных в условиях космоса // Хим. физика. – 2009. – **28**, № 11. – С. 69–74.
12. Yang K., Lule U., Xiao-Lin D. Lycopene: its properties and relationship to human health // Food Rev. International. – 2006. – **22**. – P. 309–333.
13. Lu J., Chunxiao R., Pan Y. et al. Microarray analysis of gene expression patterns of high lycopene tomato generated from seeds after long-term space flight // 38th COSPAR Scientific Assembly, 18–15 July, 2010. – Bremen, 2010. – P. 6.
14. Raithak P. V., Gachande B. D. Change of pigment contents of virus infected tomato plant // Asian J. Biol. and Biotechnol. – 2012. – **1**, No 1. – P. 1–4.
15. Гладун Г. О., Драгозов І. Г., Яворська В. К. та ін. Вплив комплексних регуляторів росту на активність фенілаланінаміакліази рослин озимої пшениці // Физиология и биохимия культ. растений. – 2011. – **43**, № 6. – С. 498–506.

Київський національний університет
ім. Тараса Шевченка

Надійшло до редакції 24.10.2012

Л. Т. Мищенко, Л. И. Остапченко, А. А. Дунич, Е. И. Данилова

Влияние условий космического полета на продуктивность растений томатов и их устойчивость к вирусам

Установлено, что факторы космического полета повышают продуктивность томатов, концентрацию каротиноидов в плодах (β -каротина и ликопина), что имеет большое значение для использования этих растений как продукта питания космонавтов в длительных космических миссиях. Показано, что растения, выращенные из семян, которые пребывали в космосе, более стойкие к инфицированию вирусами и характеризуются повышенным содержанием полифенолов.

L. T. Mishchenko, L. I. Ostapchenko, A. A. Dunich, O. I. Danilova

Effect of space flight conditions on the productivity of tomato plants and their resistance to viruses

It is established that space flight factors increase the tomato productivity and the carotenoids concentration in fruits (β -carotene and lycopene), that is important for the use of such plants as cosmonauts nutrition in long-term space missions. It is revealed that tomato plants, whose seeds were exposed to long space flight conditions, are more resistant to viruses and have higher concentrations of polyphenols than those in the stationary control.