Казакова Е.А., Подобед М.Ю., Празян А.А., Бабина Д.Д., Шестерикова Е.М., Казаков Е.И.,
Сабуров В.О., Моисеев А.С. Оценка морфофизиологических характеристик салата *Lactuca sativa* L.
после воздействия условий моделируемого космического полета

.....
Электронный научно-производственный журнал
«АгроЭкоИнфо»
=====

УДК 635.52:58.057:581.1

Оценка морфофизиологических характеристик салата *Lactuca sativa* L. после воздействия условий моделируемого космического полета

*Казакова Е.А.¹, Подобед М.Ю.¹, Празян А.А.¹, Бабина Д.Д.¹, Шестерикова Е.М.¹,
Казаков Е.И.², Сабуров В.О.², Моисеев А.С.²*

¹*Всероссийский научно-исследовательский институт радиологии и агроэкологии*

²*Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба*

Аннотация

*Проведена оценка ряда морфофизиологических параметров культуры-кандидата для выращивания в космосе *Lactuca sativa* L. после влияния сочетанного действия протонного излучения и клиностатирования. Установлено, что воздействие моделируемых космических условий снижает площадь поверхности листовых пластинок, массу корней и побегов растений салата, не изменяет количество настоящих листьев. Через 20 дней культивирования *L. sativa* после облучения и клиностатирования значения параметров длины побегов, корней и флуоресценции хлорофилла были на уровне контрольных растений. Полученные результаты вносят вклад в развитие космического растениеводства.*

Ключевые слова: КОСМИЧЕСКОЕ РАСТЕНИЕВОДСТВО, САЛАТНЫЕ КУЛЬТУРЫ, ЛАТУК ПОСЕВНОЙ, ОБЛУЧЕНИЕ, ПРОТОНЫ, СТРЕСС, КЛИНОСТАТ

Введение

Салатные культуры на сегодняшний день являются перспективными для развития и совершенствования космического растениеводства. Среди культур-кандидатов для выращивания в космосе они показали самый высокий процент урожая ($\approx 90\%$), из-за короткого жизненного цикла процесс их выращивание наиболее лёгок, чем культивирование других растений, и они хорошо подходят для произрастания в камерах для растений. Салатные культуры производят мало этилена, их можно собирать и есть в

свежем виде [1].

Салат-латук (*Lactuca sativa* L.) – представитель большого семейства цветковых растений *Compositae* [2]. При выращивании латука посевного зелёного и красного с целью поиска кандидатной салатной культуры для жизнеобеспечения человека в космосе, красный салат был оценён в качестве оптимального сорта-кандидата для краткосрочных космических миссий [3].

Не вызывает сомнений, что растения в космическом полёте должны будут обеспечивать свежее питание для астронавтов и использоваться в качестве важного компонента биорегенеративных систем жизнеобеспечения. Однако в экспериментах, проведённых биологами растений, выявлено множество изменений на разных уровнях организации, происходящих с растениями во время космического полёта по орбите, а также в экспериментах, моделирующих условия микрогравитации и воздействия излучений [4]. Поэтому для успешного использования растений в космическом растениеводстве, особенно для планирования межпланетных космических миссий, необходимо дополнять и расширять знания о влиянии на культуры-кандидаты экстремальных условий космоса.

Таким образом, цель данной работы заключается в оценке морфофизиологических характеристик салата *Lactuca sativa* после воздействия на растения условий моделируемого космического полёта – клиностатирования и облучения протонами: наиболее распространенными частицами среди космического излучения.

Материалы и методы

Объект исследования, условия культивирования, моделирование космических условий

В качестве объекта исследования использовали растения *Lactuca sativa* сорта «Мунред». Для облучения салата сочетанного с клиностатированием по 18 семян были посажены в три чашки Петри, другие три чашки (по 18 семян в каждой) служили в качестве контроля. Для выращивания *L. sativa* использовали питательную среду Мурасиге-Скуга половинной концентрации – 1/2 МС (набор компонентов производства ООО «БиолоТ»). Проращивание семян проводили в фитотроне MLR-351H (Sanyo, Япония) до 10 суток в условиях длинного дня.

На 10 сутки прорастания моделирование условий микрогравитации осуществляли с

помощью 3D-клиностата, вращающего чашки Петри со скоростью 60 об./мин, суммарное время вращения 1 час. Облучение проростков протонами энергией 100 МэВ производили на протонном ускорителе «Прометеус» сочетано с клиностатированием в суммарной поглощённой дозе 10 Гр (фракционировано по 2 Гр в моменты остановки клиностата). Такая доза теоретически может быть набрана растениями во время миссии на Марс, если корабль неоднократно попадёт в зону воздействия бурь, вызываемых солнечным космическим излучением [5].

Далее для 5 случайных растений с каждой контрольной и экспериментальной чашки измеряли длину корней и побегов, затем эти растения (30 шт., по 15 на условие) были пересажены в фальконы на 50 мл с раствором Хогланда (Sigma), pH=6,0. Дальнейшее культивирование *L. sativa* до 30 суток проводили в фитотроне ЛиА-Х (Фитотрон).

Оценка количества настоящих листьев, длины побегов и корней, площади поверхности листовых пластинок, массы побегов и корней

Количество настоящих листьев на каждом растении подсчитывали на 10, 15 и 30 сутки. Длину корней и побегов также оценивали индивидуально для каждого растения. На 10 сутки произрастания измерения проводили с помощью линейки. На 15 и 30 сутки роста осуществляли фотографирование растений, затем с помощью программного обеспечения Image Pro Plus (версия 4.5) измеряли высоту побегов и длину корней. На 30 сутки оценивали отдельно массу корней и массу побегов для каждого растения, используя аналитические весы ОНАУС (США). Также листья салата были отсканированы для последующего анализа площади поверхности листовых пластинок с помощью Image Pro Plus.

Измерение флуоресценции хлорофилла

Листья *L. sativa* (третьи в акропетальном порядке) использовали для определения параметров флуоресценции хлорофилла с помощью MultispeQ v2.0. На 30 сутки культивирования *L. sativa* для всех растений были измерены основные параметры флуоресценции, такие как: F_0 – начальная (минимальная) флуоресценция; F_m – максимальная флуоресценция; F_s – стационарный уровень флуоресценции; $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ – максимальный фотохимический квантовый выход фотосистемы II; NPQ – коэффициент нефотохимического тушения; Φ_{i2} – квантовый выход фотосистемы II,

оценивающий процент поступающего света (возбужденных электронов), который попадает в фотосистему и направлен на фотохимию; qL – коэффициент фотохимического тушения, оценивающий долю открытых реакционных центров фотосистемы II [6, 7]. Получаемые прибором данные флуоресценции передавались на компьютер и сохранялись на платформе PhotosynQ.

Статистическая обработка результатов

Данные по морфологическим и фотосинтетическим параметрам представлены в формате медиана (квартиль 1; квартиль 3). Для сравнения контрольного и экспериментального условий использовали U-критерий Манна – Уитни. Для расчётов применяли Microsoft Office Excel 2019 и программу Statistica 12.0.

Результаты и обсуждение

Оценка морфологических характеристик *Lactuca sativa*

Количество настоящих листьев салата, подвергнутого воздействию моделируемых условий микрогравитации на 10, 15 и 30 день прорастания статистически значимо не отличалось от контроля (табл. 1).

Таблица 1. Морфологические характеристики растений *Lactuca sativa*, подвергнутых экспериментальным условиям, и контрольных на 10, 15 и 30 сутки культивирования

Условие	Медиана (Q1; Q3)	Количество настоящих листьев, шт.			Длина побегов, мм			Длина корней, мм		
		Сутки культивирования								
		10	15	30	10	15	30	10	15	30
Контроль	Q1	1	3	12	8,0	11,0	27,8	20,0	46,4	137,5
	Медиана	1	3	13	9,0	12,3	31,5	22,0	64,5	142,2
	Q3	1	3	14	10,3	13,9	32,8	25,8	76,8	154,8
К+П	Q1	1	3	11	9,3	9,7	27,2	22,0	37,8	130,9
	Медиана	1	3	13	11,0	10,6	34,1	24,0	43,3*	143,6
	Q3	2	4	14	11,8	11,9	36,6	25,8	50,5	161,5

Примечание: К+П – клиностамирование сочетанное с облучением протонами

Через 5 суток после клиностамирования и облучения длина побегов оставалась такой

же, как и в контроле, при этом длина корней статистически значимо снижалась у подвергнутых модельным условиям растений по сравнению с контрольными ($p=0,022$) (табл. 1). К 30 дню культивирования (через 20 дней после облучения + клиностатирования) отмеченное выше различие в показателе длины корней нивелировалось, длина побегов также не изменялась.

Жизненная форма растений после клиностатирования и облучения салата по мере его культивирования всё заметнее отличалась от контроля. На рис. 1 показан пример внешнего сравнения 30-дневных растений между собой.

Рис. 1. Внешний вид растений *Lactuca sativa* контрольных (А) и после воздействия на 10-дневные проростки моделируемых условий космоса (Б) (30 сутки культивирования)

Подтверждением визуальных различий между контрольными растениями и растениями после воздействия стрессовых факторов служат статистически значимое снижение площади поверхности листьев у клиностатированных + облучённых растений салата ($p = 0,003$) (рис. 2) и уменьшение показателей массы побегов и корней (рис. 3).

Рис. 2. Площадь поверхности листьев у клиностатированных + облучённых протонами (К+П) и контрольных растений *Lactuca sativa* после 30 суток культивирования
 Примечания: * – различия значимы по сравнению с контролем, $p=0,003$

Рис. 3. Масса корней и побегов клиностатированных + облучённых протонами (К+П) и контрольных проростков *Lactuca sativa* после 30 суток культивирования
 Примечания: * – для массы корней различия значимы по сравнению с контролем, $p=0,0016$;
 Δ – для массы побегов различия значимы по сравнению с контролем, $p=0,0028$

Наиболее показательными для оценки воздействия моделируемых условий космического полёта на салат *Lactuca sativa* среди изученных морфологических параметров оказались измерение площади поверхности листовых пластинок и массы растений (корней и побегов). Показатель длины проростков зарекомендовал себя в качестве наиболее вариативного, хотя существенным плюсом является то, что его можно фиксировать непосредственно в процессе культивирования. Оценка этого показателя через более короткие промежутки времени, вероятно, поможет уловить дополнительные детали в динамике изменений длины корней и побегов после воздействия.

Наши данные дополняют багаж знаний о воздействии космических стрессоров на растения на морфологическом уровне, полученные другими исследовательскими группами. Интересно отметить, что во время воздействия моделированной микрогравитации на карликовые растение томатов были изменены их морфологические характеристики: увеличилась длина междоузлий, снижался урожай и размер плодов, площадь листьев, масса листьев и плодов, а также количество листьев [1]. Морфометрический анализ *A. thaliana*, выращенного во время полёта космического челнока, показал, что всхожесть семян была значительно ниже в образцах, культивируемых на лётном аппарате по сравнению с контролем [8]. По возвращению проростков резуховидки Таля на Землю после 11 дней микрогравитации на борту спутника SJ-10, площадь листьев растений оказалась больше, чем у наземного контроля [9].

Оценка фотосинтетических параметров салата

Фотосинтетический аппарат и его реакция на стресс является одним из предикторов физиологического состояния растений [10], поэтому изучение влияния моделируемого действия космического излучения и микрогравитации на фотосинтетические параметры салата было одной из задач исследования. Результаты оценки фотосинтетических параметров, измеренные в конце периода роста растений, представлены в таблице 2.

Несмотря на то, что через 20 суток после влияния облучения сочетанного с клиностатированием показаны статистически значимые отличия в нескольких оцениваемых морфологических параметрах растений, основные параметры флуоресценции хлорофилла, оценённые в листьях *Lactuca sativa*, не изменялись. Возможно, флуоресценция хлорофилла и была изменена в результате стрессового влияния, но через 20 суток после

воздействия параметры фотосинтеза успели выровняться с контрольными. Это предположение будет проверено путём оценки показателей флуоресценции сразу после окончания воздействия стрессоров. Факт того, что космические стрессоры могут приводить к изменению фотосинтеза, был показан, например, в [11]. При комбинации протеомного и физиологического подходов, использованных авторами для изучения реакции проростков риса (*Oryza sativa* L.) на условия микрогравитации, получены интересные результаты, связанные с изменением параметров фотосистем: пик эмиссии флуоресценции фотосистемы I и амплитуда поглощения P700 сильно снижались в проростках, испытывающих влияние микрогравитации. В одном из недавних исследований *A. thaliana* на МКС обнаружено восемь молекулярных путей, на которые существенное влияние оказали условия пониженной гравитации. Среди них были значительно подавлены пути, связанные с фотосинтезом (светособирающими белками, порфирином и метаболизмом хлорофилла) [12].

Таблица 2. Основные параметры флуоресценции хлорофилла, оценённые в листьях растений *Lactuca sativa*, облучённых протонами в сочетании с клиностатированием (30 сутки культивирования)

Условие	Медиана (Q1; Q3)	F _m	F _o	F _s	F _v /F _m	NPQ	Phi2	qL
Контроль	Q1	1679,39	432	474	0,74	0,63	0,64	0,61
	Медиана	1777,44	448	577,67	0,74	0,68	0,67	0,67
	Q3	1884,31	479,5	648,17	0,75	0,76	0,74	1,03
К+П	Q1	1566	399,75	427,42	0,74	0,58	0,68	0,69
	Медиана	1790,86	467	475,17	0,74	0,71	0,74	0,96
	Q3	1996,57	500,25	556,25	0,75	0,74	0,75	1,08

Примечание: К+П – клиностатирование сочетанное с облучением протонами

Выводы

Получены новые знания о влиянии моделируемых условий космической среды на салат латук – культуру-кандидат для использования в качестве источника свежего питания для астронавтов и важного компонента биорегенеративных систем жизнеобеспечения

космического корабля. Показано, что после воздействия моделируемых космических условий (клинистирования в сочетании с облучением протонами) на 10-дневные проростки салата «Мунред» изменяются ряд изученных морфологических характеристик: через 5 суток зафиксировано снижение длины корней, через 20 суток отмечено снижение массы корней и побегов растений, уменьшение показателя площади поверхности листовых пластинок. При этом в процессе роста растений после воздействия стрессоров не изменялось количество настоящих листьев. Значения параметров флуоресценции хлорофилла, длины побегов и корней на 30 день культивирования не отличались между исследуемыми группами растений.

При поддержке гранта Президента РФ для государственной поддержки молодых российских ученых – кандидатов наук № МК-3142.2021.1.4.

Список использованных источников

1. Kyriacou M.C., De Pascale S., Kyratzis A. et al. Microgreens as a component of space life support systems: a cornucopia of functional food // *Front Plant Sci.* – 2017. – V. 8 - 1587.
2. Reyes-Chin-Wo S., Wang Z., Yang X. et al. Genome assembly with in vitro proximity ligation data and whole-genome triplication in lettuce // *Nat Commun.* – 2017. – V. 8 - 14953.
3. El-Nakhel C., Giordano M., Pannico A. et al. Cultivar-specific performance and qualitative descriptors for butterhead salanova lettuce produced in closed soilless cultivation as a candidate salad crop for human life support in space // *Life.* – 2019. – V. 9. – № 3. - С. 61.
4. Kiss J.Z., Wolverton C., Wyatt S. et al. Comparison of microgravity analogs to spaceflight in studies of plant growth and development // *Frontiers in Plant Science.* - 06 December 2019. – V. 10.
5. Desiderio A., Salzano A.M., Scaloni A. et al. Effects of simulated space radiations on the tomato root proteome // *Frontiers in Plant Science.* – 24 October 2019. – V. 10.
6. Baker N.R. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2008. – № 59. – P. 89-113.
7. Genty B., Briantais J., Baker N.R., The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects.* – 1989. – V. 990. – I. 1. – P. 87-92.
8. Johnson C.M., Subramanian A., Edelmann R.E. et al. Morphometric analyses of petioles of seedlings grown in a spaceflight experiment // *Journal of Plant Research.* – 2015. – V. 128. – № 6. – P. 1007-1016.

Казакова Е.А., Подобед М.Ю., Празян А.А., Бабина Д.Д., Шестерикова Е.М., Казаков Е.И.,
 Сабуров В.О., Моисеев А.С. Оценка морфофизиологических характеристик салата *Lactuca sativa* L.
 после воздействия условий моделируемого космического полета

.....
Электронный научно-производственный журнал
«АгроЭкоИнфо»
 =====

9. Cai W., Chen H., Jin J. et al. Plant adaptation to microgravity environment and growth of plant cells in altered gravity conditions / In: Duan E., Long M. (eds) Life Science in Space: Experiments on Board the SJ-10 Recoverable Satellite. Research for Development. – Singapore: Springer, 2019. – P. 131-166.

10. Гольцев В.Н., Каладжи Х.М., Паунов М. и др. Использование переменной флуоресценции хлорофилла для оценки физиологического аппарата растений // Физиология растений. – 2016. – Т. 63. – № 6. – С. 881-907.

11. Chen B., Wang Y. Proteomic and physiological studies provide insight into photosynthetic response of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings to microgravity // Photochemistry and Photobiology. – 2016. – P. 561-570.

12. Vandenbrink J.P., Herranz R., Poehlman W.L. et al. RNA-seq analyses of *Arabidopsis thaliana* seedlings after exposure to blue-light phototropic stimuli in microgravity // Am J Bot. – 2019. – V. 106. – № 11. – P. 1466-1476.

=====

Цитирование:

Казакова Е.А., Подобед М.Ю., Празян А.А., Бабина Д.Д., Шестерикова Е.М., Казаков Е.И., Сабуров В.О., Моисеев А.С. Оценка морфофизиологических характеристик салата *Lactuca sativa* L. после воздействия условий моделируемого космического полета [Электрон. ресурс] // АгроЭкоИнфо: Электронный научно-производственный журнал. – 2021. – №6. – Режим доступа: http://agroecoinfo.ru/STATYI/2021/6/st_635.pdf. DOI: <https://doi.org/10.51419/20216635>.