

Анализ транскриптома томатов, выращенных из семян, экспонированных на международной космической станции

Научный руководитель – Заварыкина Татьяна Михайловна

Байрамкулов Денис Денисович

Аспирант

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

E-mail: dbairamkulow@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Международная космическая станция (МКС) позволяет проводить исследования влияния факторов космического полета, в частности, космической радиации, микрогравитации и измененного электромагнитного поля на рост и развитие растений [<https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.pp.43.060192.000503>]. Подобные эксперименты позволяют выявлять физиологические изменения в растениях, возникающие под действием условий космического полета, могут служить основой для последующей культивации сельскохозяйственных культур в ходе долгосрочных космических экспедиций и на лунных базах, а также для целей ускоренной селекции растений из экспонированных в космосе семян [<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15258170/>, <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2003.10.002>, <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06989-7>].

Важным направлением в космической биологии растений является исследование влияния факторов космического полета на качество семян и изучение особенностей растений, выращенных из экспонированных семян на Земле. Согласно Liu et al. [<https://doi.org/10.1038/s41526-023-00315-x>] это направление исследований открывает широкие перспективы для ускоренной селекции растений, нацеленной на увеличение продуктивности и устойчивости к болезням и сокращение вегетационного периода. Подобные исследования были проведены с использованием ряда сельскохозяйственных культур. В частности, на рисе был выявлен положительный эффект действия факторов космического полета [https://doi.org/10.1007/978-3-031-18810-7_10], однако, результаты получены не для всех культур и зачастую противоречивы. В работе с использованием семян салата рукколы было показано снижение энергии прорастания семян, но при этом жизнеспособность семян не снижалась и проростки развивались нормально [<https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev.pp.43.060192.000503>].

В ранних экспериментах с использованием семян томатов было показано, что они могут выдерживать нахождение в условиях космического полета в течение нескольких лет без какого-либо влияния на прорастание, всхожесть и урожайность [<https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1144113>]. Исследование семян томатов после 6 лет космического полета выявило повышенную вариабельности в продуктивности по сравнению с наземным контролем, часть растений при этом была бесплодна. Наблюдались отклонения в строении клеточной стенки, хлоропластов и митохондрий. Это указывает на значительные изменения, происходящие на молекулярном уровне в растениях таких томатов [https://doi.org/10.1007/4-431-27092-2_32]. В другой работе влияние продолжительного действия факторов космического полета на семена томатов проявилось в увеличении продуктивности, резистентности растений к вирусам и концентрации полифенолов в плодах [<https://doi.org/10.3389/frspt.2025.1552919>].

В работе на люцерне при 15-дневном космическом полете было выявлено ускорение прорастания семян при угнетении роста корней, что авторы связывали с хромосомными

повреждениями и нарушениями митоза, индуцированными условиями космического полета [<https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-232>]. Дальнейшие исследования показали снижение всхожести, летальность, бесплодие и ускоренное старение растений люцерны, выращенных из экспонированных семян [<https://doi.org/10.3389/frspt.2025.1552919>, <https://doi.org/10.1096/fj.13-236356>].

Известно, что одной из важнейших внутриклеточных систем, связанных с ответом растений на воздействие ионизирующей радиации, является антиоксидантная система организма. Были показаны изменения экспрессии и увеличение активности антиоксидантных ферментов при хроническом действии ионизирующего излучения в малых дозах [<https://doi.org/10.1126/science.aal1556>].

В ходе предыдущих экспериментов было проведено исследование биохимических характеристик растений томатов, выращенных из контрольных и опытных семян. Выявлено статистически значимое увеличение уровней аскорбиновой кислоты, полифенолов и каротиноидов, общей антиоксидантной активности плодов томатов по сравнению с растениями, выращенными из контрольных семян (наземный контроль) [<https://www.mdpi.com/2311-7524/7/5/89>]. Также выявлено уменьшение антиоксидантной активности в корнях растений, выращенных из экспонированных семян, увеличение продуктивности этих растений с одновременным снижением содержания сухого вещества, сахаров, органических кислот, Fe, Cu и вкусового индекса [<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0265931X16300832>].

Цель данной работы – выявление дифференциально экспрессирующихся генов в транскриптоме томатов, экспонировавшихся на МКС по сравнению с наземным контролем. Особый интерес представляют гены, участвующие в метаболизме каротиноидов, полифенолов и антиоксидантной защите растений, как наиболее ценных хозяйственных признаков у томатов. На данном этапе работы была поставлена задача провести обработку данных секвенирования транскриптома томатов опытной и контрольной групп растений и выявить основные группы дифференциально экспрессирующихся генов и сигнальные пути, в которых наблюдаются основные изменения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Опыт проводился с использованием семян томатов (*Solanum lycopersicum* L.) сорта Подмосковный ранний. Исходные семена были получены в 1992 году, экспонировались 6 лет (с 1992 по 1998 гг.) на космической станции МИР. После этого было получено 8 поколений растений. Семена, использовавшиеся в настоящем эксперименте, являются семенами 8-го поколения. Они были доставлены на Российский сегмент Международной космической станции (МКС) 19 декабря 2017 года и хранились на борту до 3 июня 2018 года, после чего были возвращены на Землю.

Опытные семена (№297-х) и наземный контроль (№296-х) выращивались в неотапливаемой теплице на территории ФГБУН «Федеральный научный центр овощеводства» в Московской области. Проращивание было проведено в апреле в кассетах с торфом. Далее растения были пересажены в теплицу с внесением минеральных удобрений. Образцы листьев и плодов для выделения РНК отбирали в период полной зрелости в конце августа в жидкий азот и хранили при -80°C. Распределение растений по группам описано в таблице 1. (вставить таблицу)

Была выделена РНК из плодов и листьев томатов опытной и контрольной групп. Выделение РНК проводили с гомогенизацией в жидком азоте с использованием СТАВ и набора реагентов RNASclean (Евроген). Качество и целостность РНК определяли с помощью электрофореза. Библиотеки кДНК готовили с помощью набора QIAseq Stranded mRNA Select Kit (Qiagen) и секвенировали на приборе NextSeq 2000 (Illumina).

Биоинформатический анализ данных включал предобработку и выравнивание сырых

прочтений с использованием конвейера PPLine (Trimmomatic, STAR, featurecounts). Дифференциальную экспрессию генов анализировали в RTrans. Последующий анализ проводили с использованием автоматизированного конвейера на Python, включая фильтрацию генов ($p\text{-value} < 0.05$, $|\log\text{FC}| > 1$), функциональную аннотацию через API NCBI и анализ обогащения сигнальных путей с помощью g:Profiler (базы GO, KEGG, Reactome).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После секвенирования и первичной биоинформатической обработки были определены группы для сравнения дифференциальной экспрессии генов. В результате были получены сигнальные пути, в которых наблюдаются изменения экспрессии у сравниваемых групп. Анализ выявил изменения в экспрессии генов, связанных с антиоксидантной защитой, метаболизмом каротиноидов, гормональной регуляцией и фотосинтезом.

В плодах опытных растений наблюдалась повышенная экспрессия гена виолаксантиндеэпоксидазы (VDE), ключевого фермента виолаксантинового цикла, защищающего от фотоокисления. Это подтверждается активацией гена Phytoene synthase 2 (PSY2), отвечающего за синтез предшественников каротиноидов. Также зафиксирована высокая экспрессия ABC1-LIKE киназы, необходимой для синтеза убихинона, стабилизирующего фотосинтетический аппарат.

Наблюдаемые изменения указывают на системную адаптацию растений к условиям космического полета. Активация синтеза жасмоновой кислоты (через алленоксидсинтазу) мобилизует защитные системы. Модуляция факторов ответа на ауксин (ARF4) и цитокининовой сигнализации (HPt1/АНР1) свидетельствует о попытке растения сбалансировать рост и защиту, что позволяет плодам поддерживать жизнеспособность и накапливать антиоксиданты в ответ на стрессовые условия.

ВЫВОДЫ

Проведено полногеномное секвенирование для анализа транскриптома (RNA-Seq) образцов тканей растений томатов (плоды и листья), выращенных из семян, экспонированных на международной космической станции, и наземного контроля. При биоинформатической обработке данных секвенирования были выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены у опытных растений по сравнению с наземным контролем. Часть из этих генов относится к системам обмена каротиноидов, антиоксидантной защиты, гормональной регуляции и метаболизма хлорофилла, что согласуется с биохимическими данными, полученными на предыдущем этапе работы.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ФГБУН "Институт молекулярной биологии им. В.А.Энгельгардта РАН под руководством к.б.н Дмитриева А.А. за помощь в проведении секвенирования и обработки данных.

Источники и литература

- 1) K. Bowler, M.V. Montagu, D. Inze, K. Superoxide dismutase and stress tolerance // Annual review of plant physiology and plant molecular biology. - 1992. - V. 43. - P. 83-116.
- 2) Bréchnac, F. Addressing ecological effects of radiation on populations and ecosystems to improve protection of the environment against radiation: Agreed statements from a Consensus Symposium Journal of Environmental Radioactivity. - 2016. - V. 158-159. - P. 21-29.
- 3) M. Causse, T. H. N. Le, P. L'Anthoëne, et al, M. A Genetic Map of Candidate Genes and QTLs Involved in Tomato Fruit Size and Composition // Journal of Experimental Botany. - 2004. - V. 55(403). - P. 1671-1685.

- 4) De Micco, V., Aronne, G., de Simone, M. C. C., De Pascale, S., Roupael, Y., & Maffei, M. E. (2023). Perspectives for Plant Biology in Space and Analogue Environments. *Npj Microgravity*, 9(1), 67. <https://doi.org/10.1038/s41526-023-00315-x>.
- 5) P. D. Fraser, P. M. Bramley, The Biosynthesis and Nutritional Uses of Carotenoids // *Progress in Lipid Research*. - 2004. - V. 43(3). - P. 228-265.
- 6) Hellweg, Christine Elisabeth, et al. *Space Radiobiology. Radiobiology Textbook*, edited by Sarah Baatout, 2023, pp. 503–69. https://doi.org/10.1007/978-3-031-18810-7_10.
- 7) Kaur, Gurleen, et al. The dissection of tomato flavor: biochemistry, genetics, and omics. *Frontiers in Plant Science*, vol. 14, June 2023, p. 1144113, <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1144113>.
- 8) Lariguet, Patricia, and Christian Fankhauser. The Effect of Light and Gravity on Hypocotyl Growth Orientation. *Light Sensing in Plants*, edited by Masamitsu Wada and others 2005, pp. 277–84, https://doi.org/10.1007/4-431-27092-2_32.
- 9) Maffei, Massimo E., et al. The Physiology of Plants in the Context of Space Exploration. *Communications Biology*, vol. 7, issue 1, October 2024, p. 1311. www.nature.com, <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06989-7>.
- 10) Oluwafemi, Funmilola A., et al. Improved Biochemical Properties of Roots of Selected Economic Crops after Simulated Microgravity Impact. *Frontiers in Space Technologies*, <https://doi.org/10.3389/frspt.2025.1552919>.
- 11) A.-L. Paul, C. J. Daugherty, E. M. Bihn, et al. Plant Growth Strategies Are Remodeled by Spaceflight // *BMC Plant Biology*. - 2012. - V. 12(1). - P. 232.
- 12) D. Tieman, G. Zhu, M. F. R. Resende Jr., et al, D. A Chemical Genetic Roadmap to Improved Tomato Flavor // *Science*. - 2017. - V. 355(6323). - P. 391-394.
- 13) Vorselen D, Roos WH, MacKintosh FC, Wuite GJ, van Loon JJ. The role of the cytoskeleton in sensing changes in gravity by nonspecialized cells. *FASEB J*. 2014 Feb;28(2):536-47. doi: 10.1096/fj.13-236356. Epub 2013 Nov 18. PMID: 24249634.
- 14) T. M. Zavarykina, E. A. Dzhos, G. S. Nechitailo, T. M. The Effect of Long-Term Exposure of Tomato Seeds to Spaceflight Conditions on the Properties of the Progeny Generation // *Plants*. - 2021. - V. 10(1). - P. 89.