

ВЗАЄМОДІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ З ПАТОГЕНАМИ В УМОВАХ ЗМІНЕНОЇ ГРАВІТАЦІЇ

Недуха О. М.

Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, Київ

Наведені літературні дані щодо реакцій мікроорганізмів на вплив мікрогравітації та результати космічного експерименту з вивчення взаємодії системи рослина–патоген в умовах реального космічного польоту. Встановлено, що мікрогравітація прискорює ураження проростків сої фітопатогенним грибом *Phytophthora sojae*. Найбільш чутливою до інфікування патогеном виявилась коренева система, де відбувалась повна деструкція клітин меристеми, зони розтягу та зони корневих волосків.

1. Вступ

Рослини як регенеранти кисню та джерело поживних речовин для астронавтів, є й будуть постійним компонентом біологічних систем життєзабезпечення на космічних кораблях та орбітальних станціях. В умовах постійної земної гравітації рослина відповідає на дію патогена захисною реакцією у вигляді серії структурно-функціональних та імунно-функціональних змін на тканинному, клітинному, субклітинному та молекулярному рівнях [1]. Проте дуже мало відомо, якою буде захисна реакція рослини на патогенний мікроорганізм в умовах реального космічного польоту, бо з питань дії мікрогравітації на фітопатогени є лише декілька робіт. Так, було проведено дослідження якісного складу мікрофлори в системі альгобактеріального ценозу (тобто у системі водорості-бактерії-риби) та ультраструктури водоростей на біосупутнику “Космос-1887” [2]. Встановлено посилення ураження бактеріями клітин хлорели та збільшення на кілька порядків кількості бактерій, серед яких переважали два штама із роду *Pseudomonas sp.* Вивчення росту *Actinomicetes brevis* на біосупутнику “Космос-936” показали прискорення формування спорангіїв під впливом мікрогравітації [3]. Необхідно відмітити дані щодо прискореного розмноження мікроорганізмів в кабіні орбітальної станції “Мир” [4, 5], серед яких були *Yersinia enterocolitica*, *Stenotrophomonas maltophilia*, та радіорезистентні види *Sphingomonas paucimobilis* та *Escherichia coli*. Враховуючи, що при дії мікрогравітації відбуваються структурно-функціональні зміни у клітинних оболонках рослин [6], які є першим бар’єром для патогена, ми зробили наступне припущення: в умовах мікрогравітації відбуватиметься прискорене інфікування рослини патогеном. Тому метою нашого дослідження було вивчення взаємодії проростків *Glycine max* L. та патогенного гриба *Phytophthora sojae* в умовах 6-добового космічного польоту.

2. Матеріали і методи

Експеримент “Патогенез сої” (SOYPAT) був частиною спільного українсько-американського експерименту, який відбувався на борті космічного корабля „Колумбія” (87-а експедиція). Проростання насіння та ріст проростків відбувалися у спеціальних пластикових мішечках, які поміщали в контейнери для біологічних досліджень

(прилад НАСА). Експеримент мав 4 варіанти проростків сої: 1 — політний варіант, неінфіковані проростки; 2 — політний варіант, інфіковані патогеном проростки; 3 — контрольний наземний варіант, неінфіковані проростки; 4 — контрольний наземний, інфіковані патогеном проростки. За добу до польоту у верхню частину мішечка поміщали сухе насіння, а у нижню — міцелій фітопатогенного гриба *Phytophthora sojae* (R-25), потім мішечок зволожували. Через 6 діб польоту проростки були зафіксовані на орбіті сумішшю 5 % параформальдегіду та 1 % глютаральдегіду на піпесі, рН 7.4, і повернені на Землю, де в лабораторних умовах були дофіксовані 2 % OsO₄, зневоджені за загально прийнятою методикою та залиті у суміш епоксидних смол епон/аралдит. Зрізи виготовляли на ультрамікросомі LKB та вивчали на електронному мікроскопі JEM-1200EX. Для світлооптичного дослідження використовували напівтонкі зрізи і вивчали у світловому мікроскопі NF. Для кількісних досліджень використовували по 20 проростків з кожного варіанту.

3. Результати та обговорення

3.1 Контрольний наземний варіант, неінфіковані проростки

Насіння сої нормально проростало (100 %), проростки мали головний та бокові корені, сім'ядолі. Довжина головного кореня становила 9.8 ± 0.8 см. Світлооптичний та електронно-мікроскопічний аналіз показав, що клітини центральної частини кореневого чохла (колумели) та ростових зон кореня мали типову структуру. Товщина клітинних оболонок коливалась від 0.2–0.3 мкм, та в них спостерігали пекто-целюлозні фібрили.

3.2 Контрольний наземний варіант, інфіковані проростки

У контрольному варіанті, інфікованому патогеном, також відмічено 100 % проростання насіння. Проростки, інфіковані *Phytophthora sojae*, виявили симптоми захворювання — світло-коричневі ділянки тільки в зоні кореневих волосків головного кореня; гіпокотиль та сім'ядолі не мали видимих симптомів захворювання. Корені були коротшими, їхня довжина становила 5.7 ± 0.9 см. Підрахунок клітин, які були вражені патогеном показав, що зона кореневих волосків головного кореня виявилась найбільш чутливою до патогена *P. sojae* (табл. 1).

Було встановлено певні зміни у структурі клітин ризодерми та субепідермальних клітин кори в зоні кореневих волосків головного кореня, які виявлялися у розпушенні клітинних оболонок та появи округлих чи овальних електронно-щільних утворень, зв'язаних з мембранами клітинних органел та цитоплазматичною мембраною. Такі утворення мали розмір 0.05–0.1 мкм; їхня локалізація та розмір нагадують типові кальцієві сайти, які утворюються в рослинних та тваринних клітинах при стресі та порушеннях кальцієвого транспорту через плазматичну мембрану [7, 8]. До того ж, клітини кори та ксилеми у зоні кореневих волосків були частково зруйновані.

3.3 Політний варіант, неінфіковані проростки

В умовах мікрогравітації середня довжина коренів проростків (9.3 ± 1.4 см) достовірно не відрізнялась від такої у проростків наземного контролю. Не виявлено змін у структурі клітин меристеми та зони корневих волосків в порівнянні із наземним контролем. На відміну від рослин наземного контролю в клітинах статенхіми колу мели — статоцитах при відсутності гравітаційного вектора амілопласти розміщувалися майже рівномірно по всій клітині, а не у дистальній частині, як у контролі.

Таблиця 1. Доля клітин шести добових проростків сої вражених патогеном *P. sojae*

Частина кореня	Частка клітин (%), уражених патогеном, у проростків сої, які росли шість днів у різних умовах*	
	Наземний контроль	Мікрогравітація
Колумела	0	34
Меристема	0	33
Зона розтягу		
епідерміс	0	21
кора	0	22
Зона корневих волосків		
епідерміс	4	4
екзодерміс	0**	0**
кора	13	100
флоема	9	100
ксилема	5	50

* – Процент гіф патогена, які виявлені як у клітинах, так і міжклітинниках інфікованих тканин. Для підрахунку брали по 50-100 клітин кожної зони кореня з чотирьох проростків кожного варіанта.

** – Клітини екзодермісу коренів сої були зруйновані, але клітин патогена не виявлено.

3.4 –Політний варіант, інфіковані проростки

В умовах мікрогравітації головний корінь всіх проростків мав ознаки інфікування — темно-бурі плями розміром 2—5 мм в діаметрі. Середня довжина коренів (8.3 ± 0.8 см) достовірно відрізнялась від такої у проростків наземного інфікованого контролю. Процент інфікованих клітин достовірно збільшувався в умовах мікрогравітації (табл. 1). Найчутливішою до інфікування патогеном виявилася, як і в контролі, зона корневих волосків. Клітини меристеми, кори та ксилеми були повністю зруйновані; цитоплазматичні органели і ядро відсутні, клітинна оболонка сильно потоншувалася або ж повністю руйнувалася; спостерігалися лише залишки везикулярних мембранних та гранулярних структур. В зруйнованих клітинах та у міжклітинниках були присутні гіфи або гаусторії гриба.

Припускається, що причиною посилення проникнення патогена в рослинні клітини в умовах мікрогравітації може бути зміна структури та міцності клітинних оболонок проростків сої. Раніше встановлено, що мікрогравітація викликає у багатьох рослин потоншення та розпушення клітинних оболонок, а також зміну їхнього складу [6, 9], в першу чергу зниження вмісту целюлози та лігніну. Це може полегшувати патогену долати перший бар'єр щодо ураження клітин. З іншого боку, в умовах мікрогравітації відбувається прискорене ділення клітин патогена, бо відомо, що мікроорганізми, у тому числі і мікроскопічні гриби, швидко розмножуються в умовах мікрогравітації [4, 5]. Питання про клітинні та молекулярні механізми прискореного вторгнення патогена *P. sojae* у клітини коренів сої поки лишається відкритим і вимагає подальшого вирішення.

Автор висловлює щирю подяку проф. Кордюм Є. Л. (Київ, Інститут ботаніки НАНУ), проф. Ліч Дж. та асистенту Марієтті Ріба-Вайт (Канзаський університет, США) за підтримку.

1. Naammond-Kosack K., Jones J. D. G. Response to plant pathology//*Biochemistry and Molecular Biology*/ Eds B. Buchanan, W. Gruissem and R. Jones, Amer. Soc. of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, 2001, pp. 1102–1156.
2. Максимов И., Смирнова М., Сидорова О. Влияние полета на содержание микрофлоры в экосистеме водоросль-бактерия-рыбы на биоспутнике “Космос-1887”//*Результаты исследований на биоспутниках*. — М.: Наука, 1992, с. 394–402.
3. Лукин А., Парфенов Г. Генетические эксперименты с *Bacillus subtilis*//*Биологические исследования на биоспутниках «Космос»*, — М.: Наука, 1979, с.214–219.
4. Kazuki H. Microflora investigation experiment//*Biological Sciences in Space*, v. 15, Supplement, 2001, p.190.
5. Kazuki H., Tsutomu S., Takeo O., et al., Inhibition in a microgravity environment of the recovery of *Escherichia coli* cells damaged by heavy ion beams during the NASDA ISS Phase I program of NASA Shuttle/Mir Mission N6//*Biological Sciences in Space*, v. 15, Supplement, 2001, p.183–188.
6. Nedukha E. Effects of microgravity on the structure and function of plant cell walls//*International Rev of Cytology*, 1996, v. 170, p. 39–77.
7. Leshem G. Ca²⁺ and intermolecular bridging of membranal phospholipids and proteins//*The Metabolism, Structure and Function of Plant Lipids*. New York: Plenum Press, 1987, p. 225–227.
8. Roux S., Slocum R. D. Role of calcium in mediating cellular functions important for growth and development in higher plants. *Calcium and Cell Function*. — NY, London: Acad. Press, 1982, v. 3, p. 409–453.
9. Cowles J., LeMay R., Jahns G., et al. Lignification in young plant seedlings grown on earth and aboard the space shuttle//*Plant cell wall Polymers: Biogenesis & Biodegradation*/Ed by Lewis N. and Paice M. — American Chemical Society, Washington, Dc, U.S.A. pp. 203–213.