

# ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ОПАСНОСТИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ОРГАНИЗМОВ НА ОСНОВЕ РЕГИСТРАЦИИ МЕМБРАНОТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ ОТ ЭКЗОГЕННЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ

Кудряшова В. А., Сидорова С. Г., Найдун С. Н.

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь,  
[verakudryashova@mail.ru](mailto:verakudryashova@mail.ru)

В процессах развития патогенеза экзотоксинам фитопатогенных организмов отводится особая роль: с их помощью фитопатогенные организмы внедряются в живой организм, разрушают ткани, перестраивают метаболизм растения-хозяина и т. д. Состав экзогенных выделений фитопатогенных грибов достаточно сложен. В него входят разнообразные токсические компоненты, ферменты, гормоноподобные вещества и пр. Одно из первичных воздействий экзогенных выделений фитопатогенных грибов связано с нарушением целостности барьерных структур живого организма и клеток, его составляющих.

Барьерно-транспортная функция - одна из главных, осуществляемых биологическими мембранами в живой клетке. Для характеристики мембраны как барьера на пути движения веществ и одновременно определения способности первой к их переносу применяются количественные критерии - коэффициенты проницаемости мембраны. Плазматическая мембрана зачастую выступает первичной мишенью воздействия токсических экзогенных соединений на растительную клетку. Однако как мембранотропные эффекты, возникающие при действии определенных токсинов, так и биоактивность компонентов, выделяемых фитопатогенными организмами, до конца не установлены.

Обычно исследование структуры биомембран подразумевает использование достаточно сложных методик и дорогостоящего оборудования. Наш подход к оценке состояния отдельных структурных элементов мембраны основывается на регистрации количественных показателей, характеризующих отдельные функции мембраны. Изменение этих показателей указывает на модификацию структуры мембраны.

Нами разработана относительно простая методика оценки проницаемости плазматической мембраны для электрически нейтральных молекул аммиака, не требующая дорогостоящего оборудования [1]. Метод основан на фиксации момента изменения окраски кислотно-основного индикатора нейтрального красного, введенного в живые метаболизирующие клетки. Оценка коэффициентов проницаемости плазматической мембраны растительных клеток для аммиака производится экспрессно (20-60 мин) в малых объемах жидкости (не более 1 мл).

Аммиак проникает внутрь растительной клетки или протопласта путем диффузии через липидный бислой. По этой причине коэффициент проницаемости плазматической мембраны для  $\text{NH}_3$  ( $P_{\text{NH}_3}$ ) в определенной степени будет определяться состоянием липидной компоненты мембраны. В связи с этим целью работы являлась количественная и качественная оценка степени модификации барьерно-транспортных свойств плазматической мембраны каллусных клеток *Nicotiana tabacum*, возникающей при воздействии культуральных жидкостей изолятов микромицета *Fusarium oxysporum*, обладающих различной агрессивностью.

В результате исследований показано, что один из главных компонентов экзотоксических выделений микромицета *Fusarium oxysporum* - фузариевая кислота - в концентрации около 1 мМ вызывает лишь слабые изменения проницаемости плазматической мембраны клеток каллуса к аммиаку. В то же время мембранотропная

активность отдельных образцов культуральной жидкости была заметно выше: отмечалось падение проницаемости мембраны к аммиаку ( $P_{NH_3}$ ).

Поскольку фузариевая кислота (главный компонент экзогенных выделений фитопатогенных грибов) оказывала слабое влияние на проницаемость плазматической мембраны каллусных клеток *Nicotiana tabacum* к молекулам аммиака, следует предположить, что мембранотропные эффекты, вызываемые пробами культуральной жидкости изолятов микромицета *Fusarium oxysporum*, обусловлены либо воздействием других компонентов экзогенных выделений, либо сочетанным действием всех компонентов экзогенных выделений патогенных грибов.

Эффект снижения  $P_{NH_3}$  плазматической мембраны растительной клетки характерен для действия многих экзогенных веществ различного происхождения [2] и, вероятно, отражает модификацию барьерно транспортной функции плазмалеммы растительной клетки. Нами исследовалось влияние целлюлолитических и пектолитических ферментов и препаратов указанных ферментов, получаемых из различных грибов. Было показано, что как очищенные ферменты, так и ферментные препараты значительно снижают проницаемость плазматической мембраны клеток табака к аммиаку. Причем этот эффект возрастает с увеличением времени воздействия веществ (или препаратов) на клетки. При этом наблюдается корреляция между эффектом снижения проницаемости плазмалеммы для аммиака и степенью очистки ферментного препарата. Более дешевые промышленные препараты, содержащие относительно большое количество примесей (т. е. веществ грибного происхождения, не полностью удаленных из экстракта) вызывали более сильное падение коэффициента проницаемости плазмалеммы каллусных клеток к аммиаку.

Различные экзоферменты содержатся в культуральной жидкости изолятов микромицета *Fusarium oxysporum* и играют вполне определенную роль в проникновении грибов организмов в растение и развитии патогенного процесса. Не исключено, что с участием этих ферментов происходит модификация барьерно транспортной функции плазматической мембраны. С другой стороны отмечаемые сдвиги величины коэффициентов проницаемости плазмалеммы для аммиака могут происходить и в результате воздействия других экзотоксинов патогенных грибов. Однако и в этом случае, изменения величины  $P_{NH_3}$  отражают их мембранотропное действие, которое вносит вклад в развитие патогенеза, поэтому на основе регистрации изменения величины  $P_{NH_3}$  под действием образцов культуральной жидкости возможно сделать предварительную экспрессную оценку степени агрессивности патогенного микроорганизма.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Кудряшов А.П., Кудряшова В.А. Оценка проницаемости мембран клеток *Nitella flexilis* для аммиака на основе эффекта сдвига рН вакуолярного содержимого // «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» Сборник статей Междунар. науч. конф., Минск. 2004. С. 195 -197.
2. Кудряшова В. А., Кудряшов А.П. Влияние экзогенных соединений на проницаемость липидного бислоя плазматической мембраны клеток и протопластов *Nicotiana tabacum* // Материалы 3 московского международного Конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» Ч. 2. Москва. 2005. С. 72.