

УДК 575:581.144.2:581.133.8:582.683.2

DOI <https://doi.org/10.32782/2226-0099.2024.139.2.14>

ВНУТРІШНЬОКЛІТИННЕ ГЕМІБІОТРОФНЕ ЗАРАЖЕННЯ ВОВЧКОМ (*OROBANCHE CUMANA* WALLR.) СОНЯШНИКА

Хаблак С.Г. – д.б.н., доцент,

с.н.с. відділу геноміки та молекулярної біотехнології,

Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії аграрних наук

Абдуллаєва Я.А. – к.с.-г.н.,

комерційний директор ТОВ «РОЗКОМ»

Спичак В.М. – аспірант відділу геноміки та молекулярної біотехнології,

Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії аграрних наук

Проведено вивчення процесу зараження *Orobanche cumana* різних гібридів соняшнику відповідно до способу взаємодії патогена з компонентами клітин кореня. Дослідження поведінки клітин кореня соняшнику під час проникнення гаусторія показали не біотрофний, а гемібіотрофний процес зараження патогеном гібридів. При гемібіотрофному змішаному типу зараження соняшника вовчок спочатку розвивається як біотрофний патоген та за допомогою ефекторів пригнічує перебіг імунних реакцій і формує багатоклітинні гаусторії, які на певному етапі росту розривають мембранні мішки клітин, що призводять до витоку цитоплазми і викликає загибель клітин кореня як некротрофний патоген. Відкриття гемібіотрофного процесу зараження вовчком соняшника відкриває новий перспективний напрямок у зменшенні інфікування гібридів паразитом через індукцію системної набутої резистентності (SAR) препаратами, що викликають утворення активних форм кисню і запускають захисні реакції рослин через програмовану смерть клітин у місцях зараження та обумовлюють некроз патогена. Процес інфікування клітин і виникнення зворотних імунних відповідей у рослин при зараженні патогенами має схожі риси і однотипний перебіг захисних відповідей. У взаємодії між вовчком та соняшником можуть діяти механізми стійкості, які зупиняють патогена в корі кореня, в ентодермі або після досягнення центрального циліндра. Клітинна стінка є першою перешкодою, яку мають подолати патогени. Клітинні оболонки клітин, що ростуть, мають «первинну» будову. До складу клітинних стінок входять целюлоза та речовини матриксу (геміцелюлози, пектини та білки). У клітинах, що вже сформувалися, клітинні стінки посилені лігніном, суберіном, калозою. Захисні реакції соняшника від вовчка складаються з укріплення клітинної стінки через осадження на ній лігніну, суберину, накопичення калози, захисних білків та перехресне зшивання білків, які перешкоджають проникненню паразита та зв'язку з судинною системою господаря. Полімери лігніну, суберину і калози зміцнюють структуру клітинної стінки шляхом збільшення її жорсткості в місці інфекції, щоб обмежити проникнення паразита.

Ключові слова: *Orobanche cumana*, раса, соняшник, паразит, гібрид, коренева система, зараження, соняшник, клітина, клітинна стінка, резистентність.

Khablak S.H., Abdullaieva Ya.A., Spychak V.M. Intracellular hemibiotrophic infection of sunflower broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.)

The process of infection of different sunflower hybrids by *Orobanche cumana* was studied according to the way the pathogen interacts with the components of root cells. The study of the behavior of sunflower root cells during the penetration of *Gaustoria* showed not biotrophic, but hemibiotrophic process of infection of hybrids with the pathogen. In the hemibiotrophic mixed type of sunflower infection, broomrape initially develops as a biotrophic pathogen and, with the help of effectors, suppresses the course of immune reactions and forms multicellular haustoria, which at a certain stage of growth break the membrane bags of cells, leading to cytoplasmic leakage and causing the death of root cells as a necrotrophic pathogen. The discovery of the hemibiotrophic process of sunflower broomrape infection opens a new promising direction in reducing the infection of hybrids with the parasite through the induction of systemic acquired

resistance (SAR) by drugs that cause the formation of reactive oxygen species and trigger plant defense responses through programmed cell death at the sites of infection and cause pathogen necrosis. The process of infection of cells and the emergence of reverse immune responses in plants when infected with pathogens has similar features and a similar course of protective responses. In the interaction between broomrape and sunflower, resistance mechanisms may act to stop the pathogen in the root cortex, in the endodermis, or after reaching the central cylinder. The cell wall is the first obstacle that pathogens have to overcome. The cell membranes of growing cells have a "primary" structure. Cell walls are composed of cellulose and matrix substances (hemicelluloses, pectins, and proteins). In cells that have already formed, the cell walls are reinforced with lignin, suberin, and callose. Sunflower's defense reactions against broomrape consist of strengthening the cell wall through the deposition of lignin, suberin, accumulation of callose, protective proteins and cross-linking of proteins that prevent the parasite from penetrating and communicating with the host vascular system. Lignin, suberin and callose polymers strengthen the cell wall structure by increasing its stiffness at the site of infection to limit the penetration of the parasite.

Key words: *Orobanche cumana*, race, sunflower, parasite, hybrid, root system, infection, sunflower, cell, cell wall, resistance.

Постановка проблеми. Останніми роками в Україні спостерігається ураження вовчком гібридів соняшнику, що мають стійкість до рас Е, F і G. З північного Степу України ураження вовчком активно переміщується до центральних, північних і західних регіонів країни. Вважалося, що інтрузивні клітини на кінчику гаусторія паразита вовчка проникають в тканини кореня соняшника міжклітинно. Останні дослідження показали, що вовчок відноситься до біотрофних паразитів і його проникнення в тканини коренів соняшника відбувається внутрішньоклітинним, а не міжклітинним шляхом. Однак клітинні процеси зараження паразитом вовчком соняшника, що задіяні під час проникнення інтрузивних клітин гаусторія в тканини кореня гібридів та спосіб їх взаємодії з компонентами клітин, залишаються досі погано дослідженими і описаними. Це вимагає досліджень способу взаємодії інтрузивних клітин гаусторія вовчка з компонентами клітин кореня соняшника.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. За оцінками в країнах Європи та Азії, особливо в Центральній та Східній Європі, Іспанії, Туреччині, Ізраїлі, Ірані, Казахстані, Україні та Китаї 16 мільйонів га соняшнику заражені вовчком (*Orobanche cumana* Wallr.), який є важливим паразитом. Щорічні втрати врожаю в усьому світі в результаті інвазії вовчком площ соняшнику становлять приблизно 1,17-2,33 мільярда євро [1].

Останніми роками в Україні спостерігається ураження вовчком гібридів соняшнику, що мають стійкість до рас Е, F і G. З північного Степу України ураження вовчком активно переміщується до центральних, північних і західних регіонів країни. Це обумовлено появою на цих територіях нових осередків і рас паразиту. Нині проблема шкідливості вовчка має світове значення [2].

Згідно з поточною статистикою досліджень найкращим способом зменшити шкоду від вовчка є створення стійких гібридів соняшнику. Для цього необхідно з'ясувати клітинні і молекулярні механізми стійкості культури до паразита, що буде корисним у розробці нових ефективних підходів для контролю паразитичних рослин [3].

Патогени рослин класифікуються залежно від способу їх харчування. Некротрофні патогени активно вбивають тканини хазяїна, коли вони колонізуються та процвітають на вмісті мертвих або вмираючих клітин. Цей спосіб життя відрізняється від способу життя біотрофних патогенів, які отримують поживні речовини з живих клітин і тому повинні підтримувати життєздатність хазяїна. Ця різниця лежить в основі різноманітних стратегій патогенезу та

імунної відповіді рослин на біотрофні та некротрофні інфекції. Третя група, гемібіотрофи, демонструє обидві форми отримання поживних речовин, переходячи від ранньої біотрофної фази до некротрофії на пізніх стадіях захворювання. Тривалість біотрофної або некротрофної фази значно варіює серед гемібіотрофних збудників [4].

Незважаючи на таксономічні розбіжності паразитичних видів, усі паразитичні рослини мають гаусторії, включаючи паразита *Orobanche cumana*. Гаусторій – це унікальний, спеціалізований орган, який походить від бічних коренів і дозволяє патогенним грибам та паразитам паразитувати на інших рослинах. Слово гаусторій походить від латинського «*haustor* або *haugire*», що означає «ящик для води». На різних стадіях розвитку гаусторій функціонує у прикріпленні господаря, інвазії господаря, уникненні імунітету господаря та передачі поживних речовин [5].

Гаусторій грибів є одноклітинною гіфою, тоді як гаусторій паразитичних рослин є багатоклітинним органом. Гаусторій грибів представляє собою внутрішньоклітинну або міжклітинну структуру, яка заражає рослини в залежності від патогена внутрішньоклітинно і оточена екстрагаусторіальною мембраною хазяїна або міжклітинно, тоді як гаусторій паразитичних рослин є міжклітинною структурою, яка проникає між клітинами хазяїна [6].

Міжклітинне проникнення гаусторія було показано під час зараження вігні катайської (*Vigna unguiculata*) паразитом *Striga gesnerioides* (родина *Orobanchaceae*) [7]. У стеблових паразитичних видів повитиці (*Cuscuta*) із родини *Convolvulaceae* при інфікуванні пеларгонії зональної (*Pelargonium zonale*) були виявлені внутрішньоклітинні, а також міжклітинні проникнення [8]. Існують докази проникнення інтрузивних клітин паразитичної рослини *Agalinis aphylla* із родини *Orobanchaceae* внутрішньоклітинно в кортикальні клітини хазяїна через невеликий отвір у клітинній стінці [9].

Вважалося, що інтрузивні клітини на кінчику гаусторія паразита вовчка проникають в тканини кореня сояшника міжклітинно. Під час процесу проникнення гаусторія клітинні стінки кортикальних клітин сояшника розчиняються ферментами інтрузивних клітин. На додаток до розчинення клітинних стінок клітин кореня сояшника, механічний тиск з боку проникаючих інтрузивних клітин паразита відштовхує клітини господаря вбік так, що форми клітин змінюються, а простір між ними повністю займає гаусторій патогена [10].

Останні дослідження показали, що вовчок відноситься до біотрофних паразитів і його проникнення в тканини коренів сояшника відбувається внутрішньоклітинним, а не міжклітинним шляхом. При зараженні сояшника інтрузивні клітини гаусторія паразита внутрішньоклітинно проникають в кореневий епідермальний і кортикальні шари, перетинають ентодерму і перицикл та досягають судин ксилеми і флоєми хазяїна, де встановлюють з ними зв'язки для поглинання поживних речовин і води. Внаслідок локального ферментативного розкладання і механічного тиску, який чинить інтрузивні клітини гаусторія під час руху до судин, перетинаючи послідовно тканини, відбувається деформація, деградація клітинної стінки в клітинах кореня і вдавнення плазмалеми в середину клітин, яка не руйнується. В результаті цього процесу відбувається утворення мембранного мішка, в якому знаходиться гаусторій паразита [11].

Як відомо, при зараженні рослин біотрофними патогенами, на відміну від некротрофних, поширення гаусторія випереджає некроз. Гаусторій виділяє в рослину не токсини, що вбивають клітини, а ефектори, які пригнічують перебіг імунних реакцій. Патоген секретує з кінчика гаусторія, що контактує з клітинною

стілкою рослини, трохи ферментів, які локально руйнують клітинну стінку, і через отвір гаусторій досягає плазмалеми, яку не руйнує, а обережно вдавлює в середину клітини. Утворюється мембранний мішок, в якому знаходиться розширене закінчення гіфи – гаусторій. При цьому у біотрофних патогенів не трапляються розриви плазмалеми. Через відсутність розривів цитоплазматичної мембрани вміст клітини не виливається в міжклітинний простір і не стає субстратом для живлення паразита, як це відбувається у некротрофних грибів [12].

Однак клітинні процеси зараження паразитом вовчком соняшника, що задіяні під час проникнення інтрузивних клітин гаусторія в тканини кореня гібридів та спосіб їх взаємодії з компонентами клітин, залишаються досі погано дослідженими і описаними. Наші спостереження показали, що на певному етапі зараження вовчком кореня соняшника при проникненні гаусторія в середину клітин і утворення мембранового мішка та подальшому рості інвазійних паразитичних структур спостерігаються розриви мембрани, витік цитоплазми, що свідчить про не біотрофний, а про гемобіотрофний процес зараження патогеном хазяїна. Це вимагає досліджень способу взаємодії інтрузивних клітин гаусторія вовчка з компонентами клітин кореня соняшника для підтвердження цього факту.

Постановка завдання. Метою досліджень було вивчення процесу зараження клітин кореня соняшнику паразитом *Orobanche cumana* відповідно до способу взаємодії патогена з компонентами клітин. Ці знання потрібні щодо подальших досліджень клітинних механізмів стійкості соняшника до паразита і розроблення ефективних заходів контролю цього паразита.

Об'єктом для досліджень у вегетаційних дослідах було насіння вовчка. Зразки насіння паразита були зібрані на окремих, найбільш заражених полях соняшнику в Лісостепу і Поліссі. Для дослідження процесу зараження вовчком соняшника використовували гібриди селекції компанії Лідеа: ЕС Нірвана, ЕС Романтик, ЕС Генезіс, ЕС Белла, ЕС Андромета, ЕС Яніс, ЕС Ніагара, ЕС Артк.

Оцінку на стійкість гібридів соняшнику до вовчка проводили у ґрунтовій культурі за модифікованою методикою та рулонним методом пророщування насіння [13]. Рулонний метод пророщування насіння вовчка полягав у можливості спільного пророщування проростків соняшнику з насінням вовчка в рулонах фільтрувального паперу.

Визначення фенологічних стадій *Orobanche cumana*, на яких відбувається зараження або виникає резистентність гібридів соняшнику до патогена, проводили, використовуючи метод ризотрона (прозорі ящики з оргскла), який дає змогу протягом кількох тижнів стежити за вовчком на коренях соняшнику та спостерігати ранні стадії, такі як сумісні/несумісні прикріплення, розвиток горбиків і некроз горбиків [14].

Проростки соняшнику, заражені *O. cumana*, вирощували в ризотронах, що склалися з прозорих ящиків з оргскла, що містили шар мінеральної вати та паперу, злитого поживним розчином. На відміну від вирощування в полі, використання ризотронів для культивування соняшнику, зараженого *O. cumana*, дозволяє спостерігати ранні стадії взаємодії між паразитичною рослиною та її господарем від індукції проростання насіння патогена до стадії горбика. Стійкість у зразків соняшнику можна охарактеризувати на етапу до прикріплення до хазяїна, на стадії прикріплення до утворення гаусторія (сумісні/несумісні) та на стадії горбиків після формування гаусторія (кількісне визначення кількості горбиків і некроз горбиків). Поява горбиків визначалося як період після утворення гаусторія і встановлення судинних зв'язків. Кількість горбиків на коренях соняшнику дозволяє

на ранній стадії в постаусторіальний період відрізнити сприйнятливі та стійкі генотипи сояшнику.

Спостереження за проникненням паразита до прикріплення до хазяїна та в преаусторіальний період проводили від 4 до 10 днів після зараження. Вовчок рідко проникає в корінь господаря до 6 днів, тоді як більшість гаусторіїв досягають внутрішніх тканин кореня (внутрішня кора до судин) через 8 днів. Перші прикріплення та перші горбики були видимі через 8 днів та 15-20 днів після зараження відповідно. Розвиток бруньок з горбиків можна було спостерігати після одного місяця культивування. Варіабельність кількості горбиків спостерігалася через три тижні культивування в резотроні.

Коріння сояшнику досліджували в постаусторіальний період на 14, 21, 28, і 35 день після зараження під стереоскопічним мікроскопом «МБС-10» для визначення загальної кількості та стадії розвитку прикріплень до коренів сояшнику та кількості некротичних прикріплень. Етапи визначення фенологічних стадій *Orobanche cumanana* на яких відбувається зараження або виникає резистентність гібридів сояшнику базувалися на наступній класифікації із невеличкими змінами [15]. Використовувалися такі стадії розвитку: T00: відсутність проростання насіння вовчка, T0: відсутність прикріплення; T1: прикріплення сформовано, але фактичний горбик ще не видно; T2: горбик діаметром менше 1 мм; T3: горбик діаметром більше 1 мм і без видимих стеблових бруньок; T4: горбик із уже сформованими стебловими бруньками або ранніми стадіями росту стебла. T00 – стадія до прикріплення до хазяїна, T0, T1 – преаусторіальний етап, T2, T3, T4 – постаусторіальний період.

Для вивчення процесу зараження *Orobanche cumanana* різних гібридів сояшнику залежно від способу взаємодії патогена з компонентами клітин кореня використовували цитохімічні методи, які поєднували зі світловою мікроскопією. Шматочки кореня сояшнику з прикріпленими проростками *O. cumanana* були вирізані з рослин сояшнику, вирощеного методом ризотрону, за допомогою стереоскопічного мікроскопа «МБС-10».

Зразки готували наступним чином. Половину зразків фіксували в суміші етанолу: оцтова кислота (3:1 за об'ємом) протягом 10 хвилин, очищали в хлоралгідраті 5 г/мл протягом 48 годин при перемішуванні та розглядали за допомогою цифрового мікроскопа Bresser Biolux LCD 50x2000x та мікроскопа Levenhuk MED 45T, що дозволяє вести спостереження «сухим» або імерсійним методом, з використанням темного або світлого поля, фазово-контрастної мікроскопії або освітлення методом Келера. Фазово-контрастна мікроскопія підвищує контрастність та чіткість напівпрозорих та прозорих зразків до такого рівня, якого при класичному дослідженні можна досягти лише шляхом фарбування [16].

Решту зразків фіксували у розчині FAA (10% формальдегіду, 5% оцтової кислоти та 50% етанолу) протягом 5 хв., зневоднювали в серії етанолу (50, 80, 95, 100, 100%: 12 годин кожен) та заливали парафіном. Потім робили тонкі зрізи товщиною 7-10 мкм за допомогою мікротома Reichert-Jung 2040, фарбували 0,2% толуїдиновим синім протягом 3 хвилин і досліджували під цифровим мікроскопом Bresser Biolux LCD 50x2000x. Цей метод дозволяє виявити фенольні речовини, а також лігнін та суберин. Він також добре працює як загальне фарбування, але в поєднанні з іншими мікроскопічними методами може дати цінну інформацію.

Виклад основного матеріалу досліджень. Ступінь ураження гібридів сояшнику вовчком представлена в табл. 1. Отримані результати свідчать про те, що усі

гібриди соняшнику уражувалися паразитом. Гібридів соняшнику, що мали резистентність до *Orobanche crotan*, не було виявлено.

Таблиця 1

Ступінь ураження гібридів соняшнику вовчком

Гібрид	Селекція	Стійкість до вовчка	Кількість протестованих рослин, шт	Уражених, рослин, %	Ступінь ураження вовчком	Кількість бульбочок вовчка на 1 уражену рослину (середнє значення)
ЕС Нірвана	Lidea	A-G	20	80	слабке	3±0,2
ЕС Романтік	Lidea	A-G	20	82	слабке	2,5±0,3
ЕС Генезіс	Lidea	A-G	20	75	слабке	2,0±0,4
ЕС Белла	Lidea	A-G	20	78	слабке	2,6±0,3
ЕС Андромета	Lidea	A-G	20	74	слабке	2,8±0,3
ЕС Яніс	Lidea	A-G	20	81	слабке	2,0±0,2
ЕС Ніагара	Lidea	A-G	20	79	слабке	2,3±0,3
ЕС Аргік	Lidea	A-G	20	77	слабке	2,4±0,2
НІР ₀₅						0,6

Примітки: ураження вовчком 7 і більше бульбочок на 1 уражену рослину (середнє значення) (7-10 балів) – сильне; 4-6 бульбочок (4-6 балів) – середнє; 1-3 бульбочки (1-3 бал) – слабке.

Процес інфікування клітин і виникнення зворотних імунних відповідей у рослин при зараженні патогенами має схожі риси і однотипний перебіг захисних відповідей. У взаємодії між вовчком та соняшником можуть діяти механізми стійкості, які зупиняють патогена в корі кореня, в ентодермі або після досягнення центрального циліндра. Клітинна стінка є першою перешкодою, яку мають подолати патогени. Клітинні оболонки клітин, що ростуть, мають «первинну» будову. До складу клітинних стінок входять целюлоза та речовини матриксу (геміцелюлози, пектини та білки). У клітинах, що вже сформувалися, клітинні стінки посилені лігніном, суберином, калозою.

Захисні реакції соняшника від вовчка складаються з укріплення клітинної стінки через осадження на ній лігніну, суберину, накопичення калози, захисних білків та перехресне зшивання білків, які перешкоджають проникненню паразита та зв'язку з судинною системою господаря. Полімери лігніну, суберину і калози зміцнюють структуру клітинної стінки шляхом збільшення її жорсткості в місці інфекції, щоб обмежити проникнення секретованих патогеном ферментів.

Як правило, проникнення вовчка при прегаусторіальній резистентності зупиняється в корі кореня соняшника на 7-10 день і пов'язано з потемнінням проростків паразита. При постгаусторіальній стійкості рух патогена гальмується в ентодермі або після досягнення центрального циліндра на 15-20 день та викликає некроз горбиків, що не дає встановити ефективні судинні зв'язки з господарем через виникнення потовщення клітинної стінки в клітинах флоєми та судинах ксилеми шляхом накопичення лігніну, суберину, калози, утворення захисних білків PR, антимікробних речовин, вторинних метаболітів типу фенольних сполук, впізнання

патогена білками резистентності R (багаті лейцином NB-LRR або NLR) у цитоплазмі клітини, що призводить до ЕТІ імунітету і загибелі клітини. Проникнення вовчка при постгаусторіальній стійкості соняшника зупиняється через укріплення клітинної стінки не в корі кореня, а глибше в ентодермі або після досягнення центрального циліндра по причині лігніфікації ентодермальних і перидиклічних клітин господаря, що запобігає проникненню паразита у судинний циліндр кореня.

Усі досліджувані гібриди соняшнику не мали стійкості до паразиту. Гаусторії вовчка встановлювали ефективні судинні зв'язки з господарем і далі розвивалися у потовщення, що виникало на корені рослини-господаря, яке вкривалося горбиками, котрі надавали йому вигляду зірочки. Згодом на протилежному кінці зірочки утворювалася брунька, що була вкрита численними лусочками, які перетворювалися пізніше на видозмінені листки. Надалі брунька розвивалася у квітконосне стебло, що виносить суцвіття на поверхню ґрунту. Етапи зараження вовчком соняшника відбуваються у часі дуже точно і скориговано. Перші прикріплення на коренях вовчка відбувалися на 7-10 день, а утворення горбиків спостерігалось на 15-20 день. Розвиток бруньок з горбиків можна було спостерігати після одного місяця культивування.

Для з'ясування клітинних процесів зараження соняшника паразитом вовчком, ми дослідили проникнення інтрузивних клітин гаусторія патогена в тканини кореня і пошкодження компонентів клітин, використовуючи підходи мікроскопії (рис. 1). Проведенні дослідження показали, що інтрузивні клітини гаусторія прокладають свій шлях до судин господаря, перетинаючи послідовно тканини кореня соняшника. При цьому гаусторій вовчка проникає в живі тканини кореня соняшнику в результаті деградації клітинної стінки господаря та утворення мембранного мішка. Проте при подальшому етапі зараження *Orobanche cumana* при проникненні гаусторія в середину клітин і утворення мембранового мішка та наступному рості інвазійних паразитичних структур спостерігаються розриви мембрани, витік цитоплазми, що свідчить про не біотрофний, а про гемібіотрофний процес зараження патогеном соняшника.

Насіння вовчка сприймає свого господаря завдяки стимуляторам проростання, присутнім в ексудатах коренів соняшнику. Після проростання корінець вовчка росте в напрямку до кореня-господаря і розвиває сосочки, які прилипають до кореня соняшника та виділяють слизові сполуки. Згодом клітини епідермісу на кінчику гаусторія, специфічного паразитарного органу, диференціюються в інтрузивні клітини, які проникають у корінь господаря. Це проникнення поєднує фізичний тиск і деградацію клітинних стінок кореня соняшнику завдяки ферментам пектолітичної активності, що вивільняються рослиною-паразитом. Інтрузивні клітини прокладають свій шлях до судин кореня господаря, перетинаючи послідовно тканини соняшника. Після контакту з судинами ксилеми хазяїна інтрузивні клітини диференціюються в елементи судин і встановлюються судинні зв'язки (ксилема, а також флоема), щоб забезпечити постачання паразиту поживних речовин.

Таким чином, вовчок має гемібіотрофний змішаний тип зараження соняшника. Спочатку він розвивається як біотроф та за допомогою ефекторів пригнічує перебіг імунних реакцій і формує гаусторії, які на певному етапі росту розривають мембранні мішки клітин, призводять до витоку цитоплазми і викликають загибель клітин кореня як некротроф. При цьому настає клітинна смерть у вигляді некрозу унаслідок ушкодження клітин кореня інтрузивними клітинами кінчика гаусторія паразита. Інтрузивні клітини кінчика гаусторія рухаються до судин кореня господаря, перетинаючи послідовно тканини кореня соняшника. Руйнування частини

клітинної стінки соняшника ферментами вовчка призводить до того, що в результаті тургорного тиску відбуваються розриви плазмалеми. Через ці розриви вміст клітини виливається в міжклітинний простір і можливо стає субстратом для живлення паразита.



Рис. 1. Гаусторії вовчка на корінні соняшника

Відкриття гемібіотрофного процесу зараження патогеном *Orobanche cumana* гібридів змінює парадигми в галузі досліджень паразитичних рослин та прокладає шлях для майбутнього розуміння та розвитку стійкості соняшнику до вовчка. Стає очевидним, що сигнальний шлях саліцилової кислоти (SA) відіграє важливу роль у стійкості до паразитичних рослин. SA-залежні реакції, пов'язані з масовим накопиченням ROS і призводять до запрограмованої загибелі клітин (PCD) по типу мегааутофагії через реакцією гіперчутливості (HR), що є ефективним захистом від біотрофних і гемібіотрофних збудників. Проте, потребує з'ясування питання щодо того, який тип мегааутофагії відбувається в клітинах кореня соняшника під час зараження вовчком.

Даний факт відкриває напрям у зменшенні інфікування соняшнику паразитом вовчком через індукцію системної набутої резистентності (SAR) речовинами, які викликають накопичення ROS і зумовлюють локалізовану програму загибелі клітин через гіперчутливу реакцію (HR). HR включає генерацію активних форм кисню (ROS), підвищення внутрішньоклітинних рівнів Ca^{2+} , що часто спричинено активацією членів родини рецепторів, що містять багато лейцину (NLR) внутрішньоклітинного нуклеотидзв'язуючого домену.

ВТН (S-метиловий ефір бензо[1,2,3]тіадіазол-7-карботіоксислоти – аналог саліцилової кислоти), рибофлавін, амінокислота метіонін, вітамін В 1 (тіамін), менадіон сульфат натрію (MSB), β-аміномаєляна кислота (ВАВА), дигідрофосфат калію, фосфонат калію, охусом, кремній, гербіциди лактофен, трифлуралін і гліофосинат амонію, кілька бактеріальних і грибових агентів (*Pseudomonas fluorescens* WCS374, *Serratia plymuthica* ICI270, *Bacillus mycoides*) є сполуками, що індукують роботу сигнальних систем АФК і запускають праймінг захисних реакцій та викликають системну стійкість проти патогенів для лікування вірусних, бактеріальних і фітоплазмових хвороб і контролю паразитичних рослин, які важко контролюються традиційними хімічними методами [17].

Висновки і пропозиції. Вважалося, що вовчок відноситься до біотрофних паразитів і проникнення в тканини коренів соняшнику відбувається внутрішньоклітинно. Проте, проведені нами дослідження поведінки клітин кореня соняшнику під час проникнення патогена з використанням підходів мікроскопії показали, що гаусторій вовчка проникає в живі тканини кореня соняшнику в результаті деградації клітинної стінки господаря та утворення мембранного мішка. Утім, при подальшому етапі зараження вовчком при проникненні гаусторія в середину клітин і утворення мембранового мішка та наступному рості інвазійних паразитичних структур спостерігаються розриви мембрани, витік цитоплазми, що свідчить про не біотрофний, а про гемібіотрофний процес зараження патогеном соняшника. Це відкриття змінює парадигми в галузі досліджень паразитичних рослин та прокладає шлях для майбутнього розуміння та розвитку стійкості соняшнику до вовчка. Стає очевидним, що сигнальний шлях саліцилової кислоти (SA) відіграє важливу роль у стійкості до паразитичних рослин. Даний факт відкриває напрямок у зменшенні інфікування соняшнику паразитом вовчком через індукцію системної набутої резистентності (SAR) препаратами, що викликають утворення активних форм кисню і запускають захисні реакції рослин через програмовану смерть клітин у місці зараження та обумовлюють некроз патогена.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Cvejic S., Radanovic A., Dedic B., Jockovic M., Jocić S., Miladinovic D. Genetic and Genomic Tools in Sunflower Breeding for Broomrape Resistance. *Genes* (Basel). 2020. Vol. 11(2). P. 152. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes11020152>.
2. Хаблак С. Г., Спичак В. М. *Orobanche cumana* WALLR. у посівах *Helianthus annuus*. ВСНАУ. 2023). Vol. 4(54). P. 62-67. DOI: <https://doi.org/10.32782/agrobio.2023.4.9>.
3. Sisou D., Tadmor Y., Plakhine D., Ziadna H., Hübner S., Eizenberg H. Biological and Transcriptomic Characterization of Pre-Haustorial Resistance to Sunflower Broomrape (*Orobanche cumana* W.) in Sunflowers (*Helianthus annuus*). *Plants*. 2021. Vol. 10(9). P. 1810. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants10091810>.
4. Laluk K., Mengiste T. Necrotroph attacks on plants: wanton destruction or covert extortion? *Arabidopsis Book*. 2010. Vol. 8. P. e0136. DOI: <https://doi.org/10.1199/tab.0136>.
5. Yoshida S., Cui S., Ichihashi Y., Shirasu K. The Haustorium, a Specialized Invasive Organ in Parasitic Plants. *Annu Rev Plant Biol*. 2016. Vol. 29. P. 643-67. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-111702>.
6. Mendgen K., Hahn M. Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. *Trends Plant Sci*. 2002. Vol. 7(8). P. 352-356. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(02\)02297-5](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(02)02297-5).
7. Reiss G. C., Bailey J. A. *Striga genesrioides* parasiting cowpea: development of infection structures and mechanisms of penetration. *Annals Botant*. 1998. Vol. 81. P. 431-440. DOI: <https://doi.org/10.1006/anbo.1997.0577>.

8. Press M. C., Gravest J. D., Stewart G. R. Physiology of the interaction of angiosperm parasites and their higher plant hosts. *Plant Cell and Environment*. 1990. Vol. 13. P. 91–104. DOI: <https://doi:10.1111/j.1365-3040.1990.tb01281.x>.
 9. Musselman L.J., Dickison W.C. The structure and development of the haustorium in parasitic Scrophulariaceae. *Botanical Journal Linn. Society*. 1975. Vol. 70. P. 183–212. DOI: <https://doi:10.1111/j.1095-8339.1975.tb01645.x>.
 10. Perez-de-Luque A. Haustorium invasion into host tissues. See Ref. 2013. Vol. 68. P. 5-86. DOI: <https://doi:10.1007/978-3-642-38146-1>.
 11. Auriac M.C., Griffiths C., Robin-Soriano A., Legendre A., Boniface M.C., Muños S., Fournier J., Chabaud M. The penetration of sunflower root tissues by the parasitic plant *Orobanche cumana* is intracellular. 2024. *New Phytol.* Vol. 241(6). P. 2326-2332. DOI: <https://doi:10.1111/nph.19495>.
 12. Shao D., Smith D.L., Kabbage M., Roth M.G. Effectors of Plant Necrotrophic Fungi. *Front Plant Sci.* 2021. Vol. 12. P. 687713. DOI: <https://doi:10.3389/fpls.2021.687713>.
 13. Kukin V. F. Method of evaluation of sunflower for resistance to infestation. *Plant protection from pests and diseases*. 1960. Vol. 7. P. 39.
 14. Le Ru A., Ibarcq G., Boniface M.C. et al. Image analysis for the automatic phenotyping of *Orobanche cumana* tubercles on sunflower roots. *Plant Methods*. 2021. Vol. 17. P. 80. DOI: <https://doi:10.1186/s13007-021-00779-6>.
 15. Martín-Sanz A., Malek J., Fernández-Martínez J.M., Pérez-Vich B., Velasco L. Increased Virulence in Sunflower Broomrape (*Orobanche cumana* Wallr.) Populations from Southern Spain is Associated with Greater Genetic Diversity. *Front. Plant Sci.* 2016. Vol. 7. P. 589. DOI: <https://doi:10.3389/fpls.2016.00589>.
 16. Pérez-de-Luque A., Moreno M. T., Rubiales D. Host plant resistance against broomrapes (*Orobanche* spp.): defence reactions and mechanisms of resistance. *Annals of Applied Biology*. 2008. Vol. 152. P. 131-141. DOI: <https://doi:10.1111/j.1744-7348.2007.00212.x>.
 17. Frąckowiak P., Pospieszny H., Smiglak M., Obrępańska-Stepłowska A. Assessment of the Efficacy and Mode of Action of Benzo(1,2,3)-Thiadiazole-7-Carbothioic Acid S-Methyl Ester (BTH) and Its Derivatives in Plant Protection Against Viral Disease. *Int J Mol Sci.* 2019. Vol. 20(7). P. 1598. DOI: <https://doi:10.3390/ijms20071598>.
-