

Ю. В. Шиліна^{1,*}, О. С. Моложава², С. В. Літвінов¹, О. П. Дмитрієв¹

¹ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна

² ННЦ «Інститут біології та медицини»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

*Відповідальний автор: j.shilina@gmail.com

**ВПЛИВ ХРОНІЧНОГО ОПРОМІНЕННЯ ШТАМІВ IMV 9096 ТА IMV 8614
БАКТЕРІЙ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* НА ІМУНОМОДИФІКАЮЧІ ВЛАСТИВОСТІ
ЇХНЬОГО ЛІПОПОЛІСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСУ**

Досліджували вплив хронічного опромінення бактерій *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) фітопатогенного штаму IMV 9096 та сапрофітного штаму IMV 8614 при потужності дози γ -випромінення 0,19 мкГр/с в дозовому полі ^{137}Cs на імуномодулюючі властивості їхнього ліпополісахаридного (ЛПС) комплексу по відношенню до модельної квіткової рослини *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*). Було показано, що у проростків дикого типу *A. thaliana* Col-0 попередня обробка ЛПС 9096, виділеного як з опромінених, так і неопромінених бактерій, зумовила посилення ураження при зараженні бактеріями цього штаму у 2,8 - 5,6 раза. Ураження проростків було більш вираженим при застосуванні ЛПС, виділеного з бактерій, які зазнали дії хронічного опромінення. У проростків мутанта *jin1* з порушенням жасмонатним сигналінгом попередня обробка ЛПС 9096 зумовила послаблення ураження при зараженні бактеріями *P. aeruginosa* 9096 на 20 - 45 %. Попередня обробка насіння *A. thaliana* Col-0 ЛПС 8614, одержаного як з опромінених, так і неопромінених бактерій сапрофітного штаму *P. aeruginosa* IMV 8614, мала незначний вплив (зміна ураженості на \pm 15 %, відмінності від контролю статистично недостовірні). У мутантних рослин *jin1* попередня обробка насіння ЛПС 8614 зумовила посилення ураження при зараженні бактеріями *P. aeruginosa* IMV 9096 на 30 - 60 %. Установлено, що хронічне опромінення бактерій змінює імуномодулюючі властивості їхнього ЛПС, ефект залежить від штаму бактерій, а вплив на рослини бактеріального ЛПС опосередкований жасмонатною та саліцилатною сигналічними системами.

Ключові слова: жасмонатна сигнальна система, хронічне опромінення, ліпополісахариди, *Arabidopsis thaliana*, *Pseudomonas aeruginosa*.

J. V. Shylina^{1,*}, O. S. Molozhava², S. V. Litvinov¹, O. P. Dmitriev¹

¹ Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

² Educational and Scientific Centre “Institute of Biology and Medicine”,

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

*Corresponding author: j.shilina@gmail.com

**IMPACT OF CHRONIC IRRADIATION OF IMV 9096 AND IMV 8614 STRAINS
OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ON IMMUNOMODULATORY PROPERTIES
OF THEIR LIPOPOLYSACCHARIDE COMPLEX**

The effect of chronic irradiation of *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) phytopathogenic strain IMV 9096 and saprophytic strain IMV 8614 at a dose rate of 0.19 $\mu\text{Gy/s}$ of γ -radiation in the dose field of ^{137}Cs on the immunomodulatory properties of their lipopolysaccharide (LPS) has been investigated. It was shown that in the wild-type seedlings of *Arabidopsis thaliana* (*A. thaliana*) Col-0 pre-treatment with LPS 9096, isolated from both irradiated and non-irradiated bacterial culture, caused an increased harmful effect 2.8 - 5.6 fold when plants were then infected with bacteria of this strain. Seedling damage was more pronounced with the use of LPS, isolated from bacteria exposed to chronic radiation. In seedlings of mutant *jin1* with impaired jasmonate signaling pre-treatment of LPS 9096 caused attenuation of the damage at 20 - 45 % when infected with *P. aeruginosa* 9096. Pre-treatment of *Arabidopsis* seeds with bacterial LPS 8614, obtained from both irradiated and non-irradiated *P. aeruginosa* 8614 cultures, had a non-significant effect (\pm 15 % over control). In mutant plants, *jin1* pre-treatment of seeds with LPS 8614 led to increased damage when infected with *P. aeruginosa* IMV 9096 at 30 - 60 %. It was found that chronic irradiation of bacteria changes the immunomodulatory properties of their LPS and the effect depends on the bacterial strain. This effect is mediated by jasmonate and salicylate signaling systems.

Keywords: jasmonate signaling, chronic irradiation, lipopolysaccharide, *Arabidopsis thaliana*, *Pseudomonas aeruginosa*.

REFERENCES

1. M.T. Kingsley et al. The *opsX* locus of *Xanthomonas campestris* affects host range and biosynthesis of lipopolysaccharide and extracellular polysaccharide. *J. Bacteriol.* **175** (1993) 5839.
2. J.V. Shilina et al. Induction of *Arabidopsis thaliana* Resistance to Pathogenic Bacteria by Lipopolysaccharide and Salicylic Acid. *Cytol. Genet.* **52**(3) (2018) 169.
3. Yu.V. Shilina et al. Evaluation of the effect of bacterial lipopolysaccharides on the resistance of *Arabidopsis thaliana* plants to phytopathogenic bacteria. Visnyk Ukrayinskoho Tovarystva Henetykiv i Seleksioneriv 13(1) (2015) 100. (Ukr)
4. Yu.V. Shilina et. al. Immunomodulatory properties of bacterial lipopolysaccharides in *Arabidopsis thaliana* plants and their modification. *Fizioloziya Roslyn ta Henetyka* 49(2) (2017) 121. (Ukr)
5. V.A. Sharpaty. *Radiation Chemistry of Biopolymers* (Moskva: GEOS, 2008) 250 p. (Rus)
6. V.A. Sharpaty. Problems of radiation chemistry of polysaccharides. Radiatsionnaya Biologiya. Radioekologiya 1 (1999) 156. (Rus)
7. Y. Li et al. X-ray Irradiated Vaccine Confers Protection Against Pneumonia Caused by *Pseudomonas Aeruginosa*. *Sci. Rep.* **6** (2016) 18823.
8. L.D. Varbanets, G.M. Zdorovenko, Yu.A. Knirel. *Methods for the Endotoxins Study* (Kyiv: Naukova Dumka, 2006) 237 p. (Rus)
9. I.A. Dudka et al. *Methods of Experimental Mycology* (Kyiv: Naukova Dumka, 1982) 552 p. (Rus)
10. L.D. Varbanets. Endotoxins of gram-negative bacteria: structure and biological role. *Mikrobiolohichnyy Zhurnal* 56(3) (1994) 76. (Rus)
11. Yu.V. Yezepchuk. *Pathogenicity as a Function of Biomolecules* (Moskva: Meditsina, 1985) 240 p. (Rus)
12. C.R.H. Raetz, C. Whitfield. Lipopolysaccharide endotoxins. *Annu. Rev. Biochem.* **71** (2002) 635.
13. V. Lai, L. Wang, P.R. Reeves. *Escherichia coli* clone Sonnei (*Shigella sonnei*) had a chromosomal O-antigen gene cluster prior to gaining its current plasmid-borne O-antigen genes. *J. Bacteriol.* **180**(11) (1998) 2983.
14. A.A. Hassan, C.P. Coutinho, I. Sá-Correia. *Burkholderia cepacia* Complex Species Differ in the Frequency of Variation of the Lipopolysaccharide O-Antigen Expression During Cystic Fibrosis Chronic Respiratory Infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **9** (2019) 273.
15. M. Mancilla et al. Spontaneous Excision of the O-polysaccharide *wbkA* Glycosyltransferase Gene is a Cause of Dissociation of Smooth to Rough *Brucella* Colonies. *J. Bacteriol.* **194**(8) (2012) 1860.
16. P.G. Nyholm et al. Conformation of the O-specific polysaccharide of *Shigella dysenteriae* type 1: molecular modeling shows a helical structure with efficient exposure of the antigenic determinant α -L-Rhap-(1 \rightarrow 2)- α -D-Galp. *Glycobiology* **11**(11) (2001) 945.
17. M.S. Trent et al. PhoP/PhoQ-induced lipase (PagL) that catalyzes 3-O-deacylation of lipid a precursors in membranes of *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.* **276**(12) (2001) 9083.
18. A.B. Schromm et al. Biological activities of lipopolysaccharides are determined by the shape of their lipid A portion. *Eur. J. Biochem.* **267**(7) (2000) 2008.
19. U. Seydel et al. Intrinsic conformation of lipid A is responsible for agonistic and antagonistic activity. *Eur. J. Biochem.* **267**(10) (2000) 3032.
20. H. Mayer, R.M. Tharanotham, J. Weckesser. Analysis of lipopolysaccharides of gram-negative bacteria. *Methods in Microbiology* **18** (1985) 157.
21. Yu.V. Shilina et al. The role of the optional component of the genome in adaptive modifications of bacterial lipopolysaccharides. In: *Factors of Experimental Evolution of Organisms. Collection of Scientific Works. Vol. 11* (Kyiv: Logos, 2011) p. 180. (Ukr)
22. L. Caarls et al. Assessing the role of ethylene response factor transcriptional repressors in salicylic acid-mediated suppression of jasmonic acid-responsive genes. *Plant & Cell Physiol.* **58**(2) (2017) 266.
23. M. Naseem, M. Kunz, T. Dandekar. Probing the unknowns in cytokinin-mediated immune defense in *Arabidopsis* with systems biology approaches. *Bioinform. Biol. Insights* **8** (2014) 35.
24. J.S. Thaler, P.T. Humphrey, N.K. Whiteman. Evolution of jasmonate and salicylate signal crosstalk. *Trends in Plant Science* **17**(5) (2012) 260.
25. A. Koornneef, C.M.J. Pieterse. Cross talk in defense signaling. *Plant Physiology* **146**(3) (2008) 839.
26. G. Loake, M. Grant. Salicylic acid in plant defense – the players and protagonists. *Curr. Opin. Plant Biol.* **10**(5) (2007) 466.
27. S.H. Spoel et al. NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol. *The Plant Cell* **15**(3) (2003) 760.