

Ю. В. Шиліна^{1,*}, О. С. Моложава², С. В. Літвінов¹, О. П. Дмитрієв¹¹ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна² ННЦ «Інститут біології та медицини»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

*Відповідальний автор: j.shilina@gmail.com

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

Досліджували вплив хронічного опромінення бактерій *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) фітопатогенного штаму ІМВ 9096 та сапрофітного штаму ІМВ 8614 при потужності дози γ -випромінення 0,19 мкГр/с в дозовому полі ¹³⁷Cs 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 разів. Ураження проростків було більш вираженим при застосуванні ЛПС, виділеного з бактерій, які зазнали дії хронічного опромінення. У проростків мутанта *jin1* з порушеним жасмонатним сигналіном 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* ІМВ 8614, мала незначний вплив (зміна ураженості на ± 15 %, відмінності від контролю статистично недостовірні). У мутантних рослин *jin1* попередня обробка насіння ЛПС 8614 зумовила посилення ураження при зараженні бактеріями *P. aeruginosa* ІМВ 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 сигнальними системами.

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

1. Вступ

Ліпополісахарид (ЛПС) клітинної стінки бактерій є одним з важливих факторів вірулентності бактерій з вираженим плейотропним впливом на організм господаря. Дефекти ЛПС у представників видів *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* обумовлювали часткову або повну втрату вірулентності [1]. Раніше нами було показано, що ЛПС індукують підвищення або зниження стійкості рослин до фітопатогенних бактерій залежно від походження ЛПС, його хімічного стану і генотипу рослин [2 - 4]. На характер імуномодулюючого ефекту впливає хімічна форма ЛПС і нами було зроблено припущення, що хімічна модифікація моделює процеси, що відбуваються в молекулі ЛПС у природних умовах [4].

Дослідження модифікації біополімерів, у тому числі бактеріальних ЛПС, проводилися *in vitro* при застосуванні високих доз іонізуючого випромінювання [5]. Були отримані дані з радіаційної деструкції полісахаридів, вивчали механізми утворення розривів у макромолекулах, мо-

дифікації карбонільних, карбоксильних і пероксидних груп у складі полімеру, роль низькомолекулярних продуктів радіолізу, включаючи продукти радіолізу води, пострадіаційні процеси деструкції за участю вільних радикалів і основні шляхи перетворення макрорадикалів, роль вільнорадикальних механізмів деградації біополімерів, ініційованих іонізуючим випромінюванням, у деструкції полісахаридів [6]. Також було показано, що рентгенівське опромінення бактерій *P. aeruginosa* гальмує здатність їх до розмноження, але функціонально зберігає антигенну експресію, зокрема О-антиген [7]. Проте на даний час у літературі практично відсутні дані про зміни ЛПС при опроміненні живих бактеріальних клітин у низьких дозах і про можливі зміни структури і властивостей ЛПС бактерій у відповідь на пролонговану/хронічну дію радіаційного фактора.

Метою даного дослідження було з'ясувати, як впливає культивування бактерій *P. aeruginosa* в умовах хронічного опромінення на імуномодулюючі властивості ЛПС щодо модельної рослини *A. thaliana*.

2. Матеріали та методи досліджень

У дослідях використовували бактерії *P. aeruginosa* фітопатогенного штаму УКМ-1108 = ІМВ 9096 та сапрофітного штаму ІМВ 8614 з колекції Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Бактерії *P. aeruginosa* культивували на агаризованому картопляному середовищі в гамма-полі пробірки з розчином хлориду ^{137}Cs при потужності дози γ -випромінювання 0,19 мкГр/с протягом 7 діб та паралельно при відсутності джерела опромінення. ЛПС виділяли шляхом м'якої екстракції 0,85 % розчином хлориду натрію [8].

Насіння *A. thaliana* дикого типу *Col-0* та мутанта *jin1*, нечутливого до жасмонової кислоти, стерилізували (96 % етанол : 3 % H_2O_2 = 1 : 1) протягом 10 хв, стратифікували в холодильнику (2 - 4 °С, 3 - 5 діб). Після стратифікації насіння замочували протягом 24 год у водному розчині ЛПС (100 мкг/мл). Після обробки насіння пророщували в чашках Петрі на водному 1,5 % агарі. На 4-у добу проростки заражали суспензією бактерій патогенного штаму *P. aeruginosa* ІМВ 9096. Визначали енергію проростання насіння (3-я доба), приріст коренів (3-я - 10-а доба) та ураженість проростків.

Ступінь ураження визначали за формулою [9]

$$Px = \frac{\sum(ab)}{Nk} 100\%,$$

де a – кількість проростків з симптомами ураження; b – бал ураження (0 – немає ознак ураження, 30 – уражена 1 сім'ядоля, 60 – уражені 2 сім'ядолі, 90 – ураження всього проростку, 100 – загибель проростку); N – загальна кількість проростків; k – вищий бал шкали обліку в даному досліді.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета програм Microsoft Office Excel 2003 та Microsoft Office Graph 2003.

3. Результати та обговорення

Було досліджено вплив ЛПС, одержаного з опромінених і неопромінених бактерій *P. aeruginosa*, на проростання насіння, приріст коренів та стійкість до зараження проростків *A. thaliana* дикого типу *Col-0* та мутанта *jin1*.

З даних, представлених на рис. 1, видно, що обробка ЛПС не мала значущого впливу на проростання насіння *A. thaliana* обох генотипів. У проростків дикого типу *Col-0*, попередньо оброблених ЛПС, виділеними з опромінених та неопромінених бактерій *P. aeruginosa* штаму ІМВ 9096 та інфікованих бактеріями цього ж штаму, впродовж 3 - 10 діб значно зменшувався відносний приріст коренів (рис. 2). У той же час у мутанта *jin1* обробка ЛПС 9096 не викликала зменшення приросту коренів у відповідь на інфікування, а у випадку обробки ЛПС з опромінених бактерій навіть стимулювала приріст коренів (рис. 2 та 3). Стимулюючий вплив ЛПС опромінених бактерій був виражений тільки для ЛПС штаму ІМВ 8614, а ЛПС штаму ІМВ 9096 навпаки мав пригнічуючий вплив на приріст кореня проростків при зараженні їх фітопатогенним штамом *P. aeruginosa* ІМВ 9096. Причому ЛПС, отриманий з опромінених бактерій обох штамів, мав стимулюючий вплив на приріст коренів рослин арабідопису, дефектних за жасмонатною сигнальною системою (мутанти *jin1*). На наш погляд, ці результати можна пояснити структурно-хімічною модифікацією ЛПС як фітопатогенного, так і сапрофітного штамів під дією хронічного іонізуючого опромінення. Така модифікація може мати захисний вплив при зараженні рослин фітопатогенним штамом *P. aeruginosa*, але тільки тоді, коли в рослинах не діє жасмонатна сигнальна система, тобто коли модифікований впливом радіації ЛПС виступає подразнювачем для іншого – саліцилатного сигнального шляху, антагоністичного до жасмонатного. Останнє може мати значення для створення ефективних імуногенних еліситорів, які потенційно можуть стимулювати стійкість рослин до бактеріальних фітопатогенів.

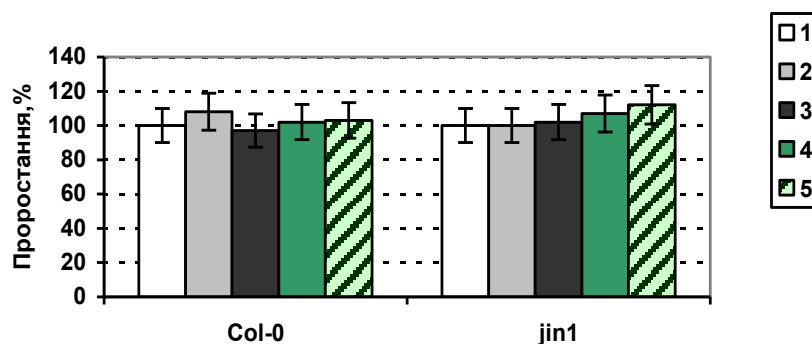


Рис. 1. Проростання насіння *A. thaliana*, % до контролю: 1 – вода; 2 – ЛПС 9096, виділений з неопромінених бактерій; 3 – ЛПС 9096, виділений з опромінених бактерій; 4 – ЛПС 8614, виділений з неопромінених бактерій; 5 – ЛПС 8614, виділений з опромінених бактерій. (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

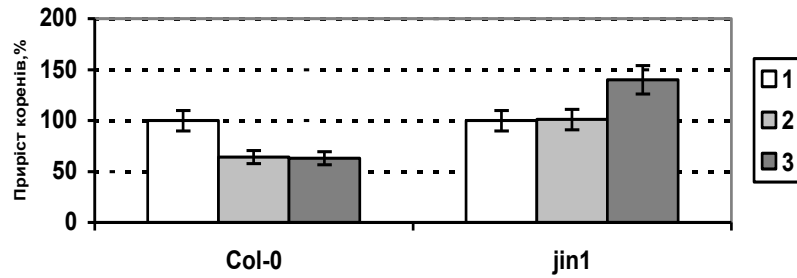


Рис. 2. Приріст коренів *A. thaliana* (3-я - 12-а доба), % при інокуляції бактеріями *P. aeruginosa* ІМВ 9096 за умови попередньої обробки ЛПС 9096: 1 – культура *P. aeruginosa*; 2 – ЛПС 9096, виділений з неопромінених бактерій *P. aeruginosa* ІМВ 9096, + культура *P. aeruginosa* ІМВ 9096; 3 – ЛПС 9096, виділений з опромінених бактерій *P. aeruginosa* ІМВ 9096, + культура *P. aeruginosa* ІМВ 9096. За 100 % прийнята середньогрупова довжина кореня проростків на 3-ю добу пророщування перед інокуляцією бактеріальною суспензією. (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

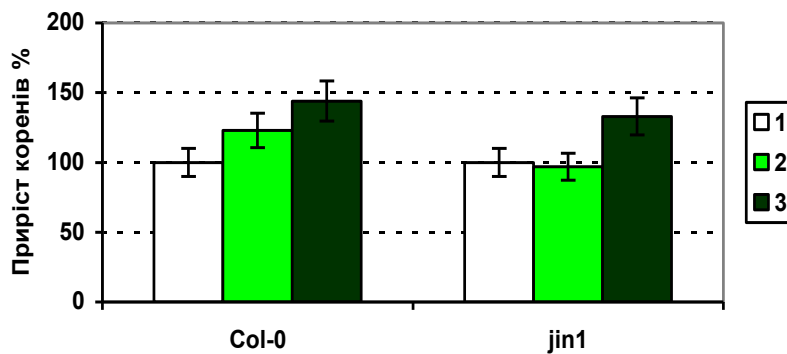


Рис. 3. Приріст коренів *A. thaliana* (4-а - 11-а доба), % при інокуляції культурою *P. aeruginosa* ІМВ 9096 за умови попередньої обробки ЛПС 8614: 1 – культура *P. aeruginosa* ІМВ 9096; 2 – ЛПС 8614, виділений з неопромінених бактерій *P. aeruginosa* ІМВ 8614, + культура *P. aeruginosa* ІМВ 9096; 3 – ЛПС 8614, виділений з опромінених бактерій *P. aeruginosa* ІМВ 8614, + культура *P. aeruginosa* ІМВ 9096. За 100 % прийнята середньогрупова довжина кореня проростків на 4-у добу пророщування перед інокуляцією бактеріальною суспензією. (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

Попередня обробка насіння мутанта *jin1* ЛПС 8614, виділеного з неопромінених бактерій *P. aeruginosa* штаму ІМВ 8614, не впливала на приріст коренів у відповідь на інфікування *P. aeruginosa* ІМВ 9096, а у випадку обробки ЛПС, виділеного з опромінених бактерій *P. aeruginosa* ІМВ 8614, стимулювала приріст коренів.

У проростків *A. thaliana Col-0* попередня обробка ЛПС 9096, виділеного як з опромінених, так і неопромінених бактерій, зумовила посилення ураження при зараженні бактеріями цього штаму (рис. 4). Ураження проростків було більш вираженим при застосуванні ЛПС, виділеного з бактерій, які зазнали пролонгованої/хронічної дії опромінення. Тобто хронічне опромінення фітопатогенних бактерій зумовило такі перебудови їхніх ЛПС, що призвели до зростання імуносупресуючого впливу на рослини. У проростків мутанта *jin1* попередня обробка ЛПС 9096 зумовила по-

слаблення ураження при зараженні бактеріями *P. aeruginosa* ІМВ 9096.

Обробка насіння *A. thaliana Col-0* за допомогою ЛПС 8614, одержаного з сапрофітного штаму *P. aeruginosa* ІМВ 8614, у цій серії дослідів мала незначний вплив (рис. 5).

У мутантних рослин *jin1* попередня обробка насіння ЛПС 8614 зумовила посилення ураження при зараженні бактеріями *P. aeruginosa* ІМВ 9096, що було більш вираженим порівняно з рослинами дикого типу *Col-0* (див. рис. 5).

Можна припустити, що дія хронічного іонізуючого випромінювання на бактеріальні клітини запускає в них різні процеси, які ведуть до змін у функціонуванні клітин, зокрема перебудови структури поверхневих ЛПС через переключення генів, відповідальних за синтез їхніх компонентів, як це відбувається при адаптації бактерій до умов середовища.

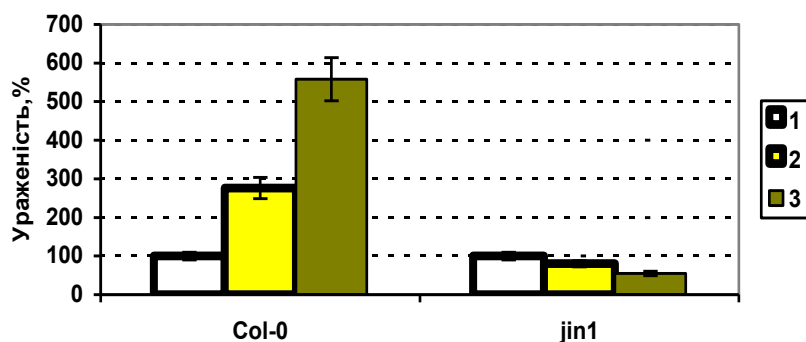


Рис. 4. Ураженість проростків *A. thaliana* Col-0 і *jin1* при обробці ЛПС 9096 та інокуляції суспензією бактерій *P. aeruginosa* IMB 9096 (15-а доба після зараження): 1 – культура *P. aeruginosa* IMB 9096; 2 – ЛПС 9096, виділений з неопромінених бактерій *P. aeruginosa* IMB 9096, + культура *P. aeruginosa* IMB 9096; 3 – ЛПС 9096, виділений з опромінених бактерій *P. aeruginosa* IMB 9096 + культура *P. aeruginosa* IMB 9096. За 100 % прийнята ураженість проростків кожного з варіантів без обробки ЛПС. (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

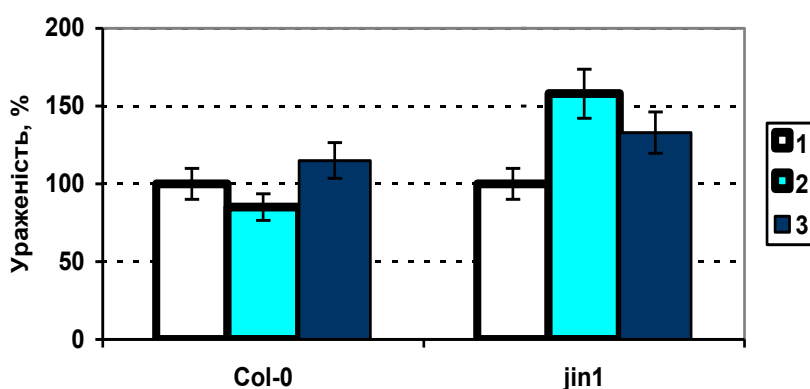


Рис. 5. Ураженість проростків *A. thaliana* Col-0 і *jin1* при обробці ЛПС 8614 та інокуляції суспензією бактерій *P. aeruginosa* IMB 9096 (9-а доба після зараження): 1 – культура *P. aeruginosa* IMB 9096; 2 – ЛПС 8614, виділений з неопромінених бактерій *P. aeruginosa* IMB 8614, + культура *P. aeruginosa* IMB 9096; 3 – ЛПС 8614, виділений з опромінених бактерій *P. aeruginosa* IMB 8614, + культура *P. aeruginosa* IMB 9096. За 100 % прийнята ураженість проростків кожного з варіантів без обробки ЛПС. (Див. кольоровий рисунок на сайті журналу.)

ЛПС являють собою групу складних високомолекулярних структурно споріднених амфільних макромолекул (молекулярна маса 100 - 900 kDa) [10]. ЛПС складаються з трьох різних компонентів: ліпиду А, ковалентно з'єданого з гетерополісахаридним компонентом, представленим олігосахаридом кора і О-специфічними ланцюгами [10 - 12]. Кожний з компонентів молекули ендотоксину має специфічні складові, проявляє різні біологічні активності й знаходиться під окремим генетичним контролем [10, 13]. Біосинтез ЛПС є багатостадійним процесом, який каталізується рядом ферментів, і модифікації ЛПС визначаються генами ферментів синтезу окремих компонент та регуляцією їхньої експресії.

Модифікації ЛПС можуть здійснюватися на рівні їхньої первинної структури (хімічного складу головного вуглеводного ланцюга макромолекули ЛПС, локалізації, кількісного та якісного складу бічних замісників, заряду окремих полярних груп) та вторинної структури (конформації макромолекул ЛПС) [14 - 20]. Зміни струк-

тури та функціональної активності ЛПС детерміновані експресією генів бактеріальних хромосом і плазмід, що визначають синтез окремих структурних компонентів ЛПС [21]. Є підстави припускати, що в процесах адаптації бактеріальних популяцій до різних біотичних та абіотичних факторів важливе значення належить не тільки відбору певних генетичних форм, що мають відповідну структуру ЛПС, але й індукованим модифікаціям ЛПС, в основі яких лежать епігенетичні механізми, та процесам постсинтетичної модифікації ЛПС.

Що стосується різної реакції рослин дикого типу і мутантів, нечутливих до жасмонату, то як свідчать дані, представлені у наших попередніх дослідженнях [2 - 4], ЛПС може викликати зміни в сигнальних мережах рослинної клітини, зокрема компенсувати відсутність одного сигнального шляху активацією іншого.

Як відомо, між саліцилатною та жасмонатною сигнальними системами існує складна взаємодія (crosstalk), яка може проявлятися через зворотні

антагоністичні, адитивні та синергічні ефекти і має адаптивне значення [22 - 26]. Можлива компенсація захисного ефекту при інгібуванні однієї сигнальної системи за рахунок активації іншої. Так, рослини *A. thaliana*, не здатні накопичувати саліцилову кислоту, продукували у 25 разів вищі рівні жасмонової кислоти у відповідь на інфікування *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000. У клітинах листків цих рослин значно зростає рівень експресії жасмонат-залежних генів *LOX2*, *PDF1.2* та *VSP* [27].

Отже, хронічне опромінення бактерій змінює імунотулюючі властивості їхніх ЛПС по відношенню до рослин *A. thaliana*, і цей ефект залежить як від походження ЛПС, так і від функціонування у рослин жасмонатної сигнальної системи.

4. Висновки

1. У проростків *A. thaliana Col-0* попередня обробка ЛПС 9096, виділеного як з опромінених, так і неопромінених культур бактерій, зумовила посилення ураження при зараженні бактеріями

патогенного штаму. Ураження проростків було більш вираженим при застосуванні ЛПС, виділеного з бактерій, які зазнали дії хронічного опромінення.

2. У проростків мутанта *A. thaliana jin1* з порушеним жасмонатним сигналіном попередня обробка ЛПС 9096 зумовила послаблення ураження при зараженні суспензією бактерій *P. aeruginosa* ІМВ 9096.

3. У мутантних рослин *jin1* попередня обробка насіння ЛПС 8614 зумовила посилення ураження при зараженні бактеріями *P. aeruginosa* ІМВ 9096, що було більш вираженим порівняно з тим, яке спостерігали у рослин дикого типу *Col-0*.

4. Хронічне опромінення бактерій *P. aeruginosa* змінює властивості їхніх ЛПС: ЛПС проявляють захисний та стимулюючий ефект у випадку ураження рослин *A. thaliana* фітопатогенним штамом *P. aeruginosa* ІМВ 9096, коли деактивована жасмонатна сигнальна система, а функціонує антагоністична до неї саліцилатна сигнальна система.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

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. Ю.В. Шиліна та ін. Оцінка впливу бактеріальних ліпополісахаридів на стійкість рослин *Arabidopsis thaliana* до фітопатогенних бактерій. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів* 13(1) (2015) 100.
4. Ю.В. Шиліна та ін. Імуномодулювальні властивості бактеріальних ліпополісахаридів у рослин *Arabidopsis thaliana* та їх модифікація. *Фізіологія рослин та генетика* 49(2) (2017) 121.
5. В.А. Шарпатый. *Радиационная химия биополимеров* (Москва: ГЕОС, 2008) 250 с.
6. В.А. Шарпатый. Проблемы радиационной химии полисахаридов. *Радиационная биология. Радиоэкология* 1 (1999) 156.
7. Y. Li et al. X-ray Irradiated Vaccine Confers Protection Against Pneumonia Caused by *Pseudomonas Aeruginosa*. *Sci. Rep.* 6 (2016) 18823.
8. Л.Д. Варбанец, Г.М. Здоровенко, Ю.А. Книрель. *Методы исследования эндотоксинов* (К.: Наук. думка, 2006) 237 с.
9. И.А. Дудка и др. *Методы экспериментальной микологии* (К.: Наук. думка, 1982) 552 с.
10. Л.Д. Варбанец. Эндотоксины грамотрицательных бактерий: структура и биологическая роль. *Микробиол. журн.* 56(3) (1994) 76.
11. Ю.В. Езепчук. *Патогенность как функция биомолекул* (Москва: Медицина, 1985) 240 с.
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. Ю.В. Шиліна та ін. Роль факультативного компоненту геному в адаптивних модифікаціях ліпополісахаридів бактерій. У кн.: *Фактори експериментальної еволюції організмів*. Зб. наук. праць. Т 11 (К.: Логос, 2011) с. 180.
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.

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 (± 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 Ukraininskoho Tovarystva Henetykiv i Selektioneriv* 13(1) (2015) 100. (Ukr)
4. Yu.V. Shilina et al. Immunomodulatory properties of bacterial lipopolysaccharides in *Arabidopsis thaliana* plants and their modification. *Fiziolohiya 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. Zdrovenko, 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.

Надійшла/Received 24.05.2021