

Ю. В. Шиліна¹, І. В. Жук^{1,*}, О. С. Моложава², Ю. І. Шевченко³¹ Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України, Київ, Україна² ННЦ «Інститут біології та медицини»

Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

³ Syngenta Group AG, Базель, Швейцарія*Відповідальний автор: ivzhukvi@gmail.com**ВИВЧЕННЯ ДІЇ ХРОНІЧНОГО ГАММА-ОПРОМІНЕННЯ НА ФІТОТОКСИЧНІСТЬ
ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
ТА ЕКСПРЕСІЮ ЇХ ФАКТОРІВ ПАТОГЕННОСТІ**

Досліджено вплив хронічного гамма-опромінення (впродовж 8 діб за потужності дози гамма-випромінювання $1,2 \cdot 10^{-7}$ Гр/с, поглинута доза становила $8,29 \cdot 10^{-2}$ Гр (8,29 сГр) на бактерії *Pseudomonas aeruginosa* (штами ІМВ 9024, ІМВ 9095, ІМВ 9096). Показано, що опромінення фітопатогенних штамів *P. aeruginosa* ІМВ 9024 і ІМВ 9096 стимулювало їх фітотоксичну активність, а у штаму ІМВ 9095 – ріст. Також виявлено стимуляцію утворення пігментів піоціаніну (в усіх досліджуваних штамів *P. aeruginosa*, найбільше – у ІМВ 9024) та піомеланіну – у штамів ІМВ 9024 та ІМВ 9096 (найбільше у ІМВ 9024). Прояви підвищеної фітотоксичної активності бактерій упродовж ряду поколінь після зараження вказують на існування епігенетичних механізмів, що забезпечують підтримання експресії факторів патогенності бактерій. Показано, що хронічне опромінення бактерій у низьких дозах здатне призводити до значних модифікацій відносин у системі «рослина - фітопатогенні бактерії».

Ключові слова: хронічне гамма-опромінення, *Pseudomonas aeruginosa* штамів ІМВ 9024, ІМВ 9095, ІМВ 9096, піоціанін, піомеланін, фітотоксична активність.

1. Вступ

Зараз в Україні склалась особливо загрозлива екологічна ситуація, пов'язана з війною, що додає ризиків радіоактивного забруднення середовища до тих, що були раніше – аварій на об'єктах атомної енергетики та під час експлуатації уранових копалень, переробки ядерного палива тощо [1–4]. Мікрофлора як важлива ланка всіх біогеоценозів змінюється при іонізуючому випромінюванні, зокрема при поєднанні з іншими стресовими факторами (важкі метали, пестициди тощо) [5]. Накопичено дані, що свідчать про здатність низькоінтенсивного хронічного іонізуючого опромінення модифікувати структуру та функціональну активність мікробних спільнот у рослинно-грунтових системах і мікробіомах природних екосистем [6–11]. Показано, що тривала дія малих доз радіації може призводити не стільки до зниження таксономічного різноманіття, скільки до перебудови структури мікробіоценозів, зміни відносної чисельності окремих функціональних груп бактерій і грибів, а також до перерозподілу метаболічних шляхів, пов'язаних з кругообігом вуглецю, азоту та стрес-відповіддю мікроорганізмів [6–11]. Разом із тим, експериментальні дані щодо реакцій

фітопатогенних видів, зокрема *Pseudomonas aeruginosa* на низькодозове хронічне опромінення залишаються вкрай обмеженими.

Тому для розробки ефективних методів захисту та прогнозування ризиків актуальним є вивчення впливу радіаційного фактора на властивості патогенних мікроорганізмів та механізми модифікації їх властивостей.

Метою даного дослідження було вивчення впливу хронічного гамма-опромінення з малою потужністю на фітотоксичність бактерій *P. aeruginosa*, експресію їхніх факторів патогенності – піоціаніну і піомеланіну та проліферативну активність.

2. Матеріали та методи досліджень

У дослідженнях використовували бактерії *P. aeruginosa* фітопатогенних штамів УКМ-В-1 = АТСС 10145 = NCIB 8295 = ВКМ В889 = ІМВ 9024, УКМ-В-1107 = ІМВ 9095, УКМ-В-1108 = ІМВ 9096 з колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України. Штам ІМВ 9024 є полібіотрофом, широко використовується як типовий штам, контрольний у мікробіологічних та екотоксикологічних дослідженнях. Штами

© Автор(и), 2026

Стаття опублікована ІЯД НАН України за умовами відкритого доступу за ліцензією CC BY-NC 4.0

ІМВ 9095 та ІМВ 9096 виділені з уражених гниллю цибулин *Allium cepa* в Україні. Показано, що ці штами формують біоплівку однією й тією ж послідовністю етапів, однак мають відмінності в структурній організації біоплівки, що може певним чином залежати від біологічних особливостей відповідного штаму. Відомо, що у штамів ІМВ 9095 та 9096 у складі біоплівки *P. aeruginosa* кількісно переважали тяжкі, а у штаму ІМВ 9024 виявився надлишок конгломератів. На етапі утворення сіткоподібної структури для штаму ІМВ 9095 була характерною поява невеликих за площею ореолів [12]. Попередніми дослідженнями встановлено, що хронічне опромінення бактерій *P. aeruginosa* штаму ІМВ 9096 змінює властивості їхніх ліпополісахаридів (ЛПС), що проявляють захисний та стимулюючий ефект у випадку ураження рослин *Arabidopsis thaliana*, коли деактивована жасмонатна сигнальна система, а функціонує антагоністична до неї саліцилатна сигнальна система [13].

Бактерії інокулювали на щільне картопляне середовище і культивували в термостаті при температурі 28 °С впродовж 2 діб. Готували суспензії бактерій *P. aeruginosa* з використанням буфера, яким змивали бактерії з поверхні щільного поживного середовища і доводили концентрацію клітин в суспензії до 10^9 кл/мл з використанням стандарту каламутності. Рідке поживне середовище мало такий склад: K_2HPO_4 – 5,25 г; KH_2PO_4 – 4,5 г; $(NH_4)_2SO_4$ – 0,5 г; $Na_3C_6H_5O_7 \cdot 5,5H_2O$ – 0,3 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,123 г; глюкоза – 1 г.

Вихідну суспензію з концентрацією клітин 10^9 кл/мл послідовно доводили до концентрації 10^5 кл/мл у рідкому поживному середовищі в скляних пробірках діаметром 12 мм і розміщували в дозовому полі навколо пробірки з розчином $^{137}CsCl$. Пробірки з опромінюваною суспензією розміщували на однаковій відстані від джерела опромінення, потужність дози визначали в центральній точці розміщення пробірки. Потужність дози гамма-випромінювання становила $1,2 \cdot 10^{-7}$ Гр/с. Культури бактерій інкубували при кімнатній температурі впродовж 8 діб. Визначена поглинута доза гамма-випромінювання при потужності дози $1,2 \cdot 10^{-7}$ Гр/с за 8 діб становила $8,29 \cdot 10^{-2}$ Гр (8,29 сГр). Контрольну культуру утримували за тих же умов без опромінення. Повторність досліду була триразовою.

Відомо, що час подвоєння *P. aeruginosa* становить 1,5–3 год *in vitro* [14]. Таким чином, за 8 діб (192 год) популяції пройшли понад 60 генерацій, і застосований режим опромінення є хронічним та реалізується на рівні декількох поколінь бактерій.

Вміст піоціаніну і піомеланіну вимірювали спектрофотометрично при λ_{330} та λ_{400} відповідно, в умовних одиницях, використовуючи дистильовану воду як контроль [15–18].

Насіння кукурудзи сорту «Титан» попередньо знезаражували та пророщували 3 доби в термостаті при температурі 28 °С, потім проростки поміщали кінчиками коренів (точкою росту і меристематичною зоною) у воду із суспензією опромінених і неопромінених бактерій (у кінцевій концентрації – 10^7 кл/мл) на 4 доби, після чого проростки переносили на чисту воду без суспензії бактерій. Розраховували фітотоксичну активність (%) за методом Берестецького [19]. Контрольні проростки поміщали у воду. На основі отриманих даних проводили розрахунок фітотоксичної дії дослідних суспензій бактерій за формулою:

$$A_f = 100 - (D_x - D_p) / (D_k - D_p) \cdot 100 \%,$$

де A_f – фітотоксична активність (% гальмування росту корінців); D_x – середня довжина корінців у дослідному варіанті; D_k – середня довжина коренів у контролі; D_p – початкова довжина коренів.

Результати обробляли статистично. На графіках представлено середні значення з похибками. Для порівняння між культурами застосовано непараметричний критерій Краскела - Волліса ($p > 0,05$), для кореляцій – коефіцієнт Спірмена, для багатовимірного описового аналізу – метод головних компонент (PCA) після стандартизації. Аналіз виконано в Jupyter Notebook (Python 3.11) із використанням бібліотек pandas, NumPy, Matplotlib, Seaborn, scikit-learn та SciPy. Подібний підхід використовували в роботах [20–22] при вивченні фітопатогенних *Pseudomonas* у рослинних системах.

3. Результати та обговорення

Попередні дослідження на модельній дводольній рослині продемонстрували зміни фітопатогенності штамів *P. aeruginosa* після хронічного опромінення: у проростків дикого типу *A. thaliana* Col-0 ураження було більш вираженим за дії ЛПС, виділеного з бактерій *P. aeruginosa* ІМВ 9096, що зазнали хронічного опромінення [13].

На прикладі однодольної рослини (кукурудзи) реакція фітопатогенного штаму *P. aeruginosa* ІМВ 9096 на хронічне опромінення була подібною до реакції *P. aeruginosa* ІМВ 9024 – зростання фітотоксичної активності, порівняно з неопроміненою культурою цього ж штаму (рис. 1).



Рис. 1. Вплив хронічного гамма-опромінення на фітотоксичну активність різних штамів фітопатогенних бактерій *P. aeruginosa*.

Обробка коренів опроміненою культурою фітопатогенного штаму IMB 9095 стимулювала їхній ріст (див. рис. 1).

Встановлено, що низькоінтенсивне опромінення бактерій фітопатогенного штаму *P. aeruginosa* IMB 9024 зумовлювало помітне інгібування ними росту проростків кукурудзи порівняно з неопроміненим варіантом, який стимулював ріст коренів у проростків (див. рис. 1).

Одночасно з пригніченням росту головного кореня при зараженні опроміненою культурою спостерігали різні морфологічні аномалії (посилення розвитку бічних коренів та закручування кінчиків коренів), відсутні у варіанті із зараженням неопроміненими бактеріями. Візуальні прояви ураження (відмирання меристеми головного кореня, розвиток бічних коренів, утворення некротичних зон на різних ділянках коренів, ослизнення коренів) були виявлені також лише при зараженні проростків опроміненою культурою фітопатогенного штаму IMB 9096; контрольний варіант і варіанти, заражені неопроміненою культурою, таких проявів не мали.

За низькоінтенсивного опромінення, застосованого в нашому дослідженні, кількість первинних пошкоджень ДНК у бактеріальних клітинах *P. aeruginosa* була, ймовірно, незначною. У таких умовах репараційні системи бактерій (зокрема, системи рекомбінаційної репарації, ексцизійної репарації нуклеотидів) могли ефективно відновлювати пошкодження, що дало змогу більшості клітин зберегти метаболічну актив-

ність і вірулентність. Це узгоджується з відомими даними про те, що при низьких дозах іонізуючого випромінювання переважно утворюються поодинокі розриви ланцюга ДНК та окисні пошкодження, які бактерії здатні швидко і ефективно ліквідувати [6–11, 13]. Водночас, навіть за ефективної репарації, низькодозове опромінення може індукувати стрес-відповідь і адаптивні зміни в регуляції генів вірулентності та токсинів. Подібні ефекти описані для *P. aeruginosa* та інших бактерій і можуть бути пов'язані з активацією систем сигналіngu та перерозподілом метаболічних ресурсів після часткового пошкодження [6–11, 13]. Тривалий низькодозовий вплив дає можливість накопичувати сигнальні зміни без летальності, що призводить до переключення експресії факторів патогенності в бік підвищеної продукції токсинів і пігментів. Таким чином, ефективність репараційних процесів не суперечить отриманому впливу – вона лише свідчить про те, що зміни мають не деструктивний, а регуляторний (адаптивний) характер. Ефективна реалізація репараційних процесів при низькій поглиненій дозі не лише забезпечувала виживання бактерій, але й могла сприяти переключенню їхнього метаболізму в бік підвищеної продукції токсичних метаболітів, що й спостерігалось в експерименті. У ході патогенезу відбувається послідовна зміна експресії факторів вірулентності – від фітогормонів до токсинів, унаслідок чого початкова стимуляція росту змінюється інгібуванням.

P. aeruginosa, як і ряд інших фітопатогенних бактерій, синтезує фітогормони та вторинні метаболіти, що на ранніх стадіях інфекції стимулює ріст рослин [18, 19]. Такий динамічний па-

терн чітко проявився при інокуляції неопроміненими бактеріями. Опромінення бактерій, судячи з отриманих результатів, спричинило активацію синтезу токсичних сполук (рис. 1 і 2).

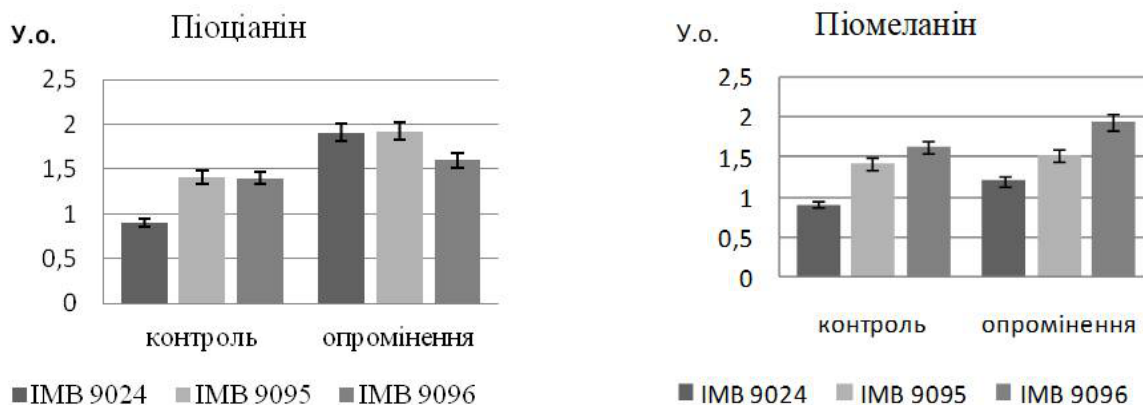


Рис. 2. Вплив хронічного гамма-опромінення на синтез піоціаніну та піомеланіну у фітопатогенних штамів *P. aeruginosa*.

Відомо, що під час розвитку інфекції піоціанін модулює архітектуру кореневої системи рослин завдяки інгібуванню первинного росту кореня, стимуляції утворення бічних коренів та корневих волосків за рахунок взаємодії між утворенням активних форм кисню (АФК) та етилензалежної сигналізації [23].

Очевидно, що морфологічні аномалії та зміни росту коренів у проростків кукурудзи, інфікованих опроміненими культурами бактерій, також зумовлені впливом піоціаніну, оскільки нами встановлено, що хронічне гамма-опромінення бактерій протягом 8 діб при потужності дози $1,2 \cdot 10^{-7}$ Гр/с призводило до стимуляції утворення піоціаніну в усіх досліджуваних фітопатогенних штамів *P. aeruginosa* (IMB 9024, IMB 9095, IMB 9096) (див. рис. 2). Найбільша стимуляція синтезу піоціаніну була відмічена у штаму *P. aeruginosa* IMB 9024 (більше 200 % порівняно з неопроміненим контролним варіантом) (див. рис. 2).

Зростання рівня піоціаніну може сприяти виживанню клітин у біоплівках при дії окисників, оскільки активує набір генів, що беруть участь в енергозалежних захисних реакціях, включно з реакцією на окиснювальний стрес, системи ефлюксу RND та фактори кластера біогенезу заліза та сірки [24]. У інфікованих *P. aeruginosa* рослинних клітинах піоціанін порушує процеси електронного транспорту і кальцієвий баланс у клітинах, інгібує процеси цитоплазматичного і мітохондріального дихання, може прямо викликати порушення функціонування мембран, інактивувати вакуолярну АТФазу [24].

Незалежно від таксономічної приналежності господаря, піоціанін чинить супресивний вплив

на його захисні системи, проявляє в якості фактора вірулентності широкий спектр активностей, включно з антибіотичною, і це поєднання неспецифічної токсичності та характерного синьо-зеленого забарвлення робить піоціанін зручним біомаркером для ідентифікації *P. aeruginosa* [15].

Очевидно, що посилення синтезу піоціаніну і фітотоксичної активності у штаму IMB 9024 є взаємопов'язаними проявами (див. рис. 1 і 2).

Ще одним пігментом та екзотоксином, що, як і піоціанін, виробляє *P. aeruginosa*, і який також належить до універсальних бактеріальних вторинних метаболітів з окисно-відновлювальними властивостями є піомеланін, що теж сприяє адаптації штамів [15, 16, 23, 24].

Було показано, що хронічне гамма-опромінення бактерій протягом 8 діб при потужності дози $1,2 \cdot 10^{-7}$ Гр/с призводило до стимуляції утворення піомеланіну фітопатогенними *P. aeruginosa* IMB 9024 та IMB 9096 приблизно на 30 та 20 % відповідно (див. рис. 2).

Найбільша стимуляція синтезу піомеланіну була відмічена у штаму *P. aeruginosa* IMB 9024 з властивостями поліспецифічного патогена. Відсутність значущих міжштамових відмінностей за окремими показниками (Краскела - Волліса, $p > 0,05$) вказує на консервативний характер реакції виду в цілому. Водночас аналіз парних залежностей і кореляційний (за Спірменом) виявили штаму-специфічні патерни та чіткий компроміс між фітотоксичністю та синтезом пігментів, що вказує на незалежні регуляторні шляхи. PCA на стандартизованих даних показав, що фітотоксичний потенціал та синтез пігментів повністю пояснюють варіабельність, чітко розмежовуючи дві ортогональні стратегії адаптації. Захисна стратегія домінує у штаму IMB 9024, де

високий рівень піоціаніну супроводжується помірною фітотоксичністю. Бактерії перенаправляють енергію на захист від окиснювального стресу замість атаки рослини, звідси й зниження фітотоксичності та гіперпродукція піоціаніну як редокс-сигналу та піомеланіну як антиоксиданту [18, 23]. Вірулентна стратегія переважає у штаму ІМВ 9096 – збереження високої фітотоксичності при низькому рівні піоціаніну. Піомеланін забезпечує достатній захист від АФК, антимікробних сполук, модифікує реакції імунного захисту і сприяє персистенції патогенів [16]. Це дає змогу бактерії підтримувати інші фактори вірулентності, що особливо важливо для штамів рослинного походження. Штам ІМВ 9095 займає проміжне положення з помірними значеннями та мінімальним підвищенням піомеланіну, що може вказувати на нижчу пластичність редокс-регуляторів або енергетичний компроміс.

Таким чином, хронічне низькодозове опромінення запускає компроміс між вірулентністю та виживанням: зниження енерговитратної продукції редокс-активного піоціаніну на користь антиоксидантного піомеланіну дає можливість бактерії адаптуватися до постійного окисного навантаження, характерного для радіоактивно забруднених екосистем (наприклад, Чорнобильська зона відчуження). Отримані результати узгоджуються з даними про перевагу піомеланін-гіперпродукуючих варіантів у хронічних інфекціях та їхню підвищену стійкість до окиснювального стресу [25, 26].

Отже, виявлені нами зміни вмісту піомеланіну очевидно є наслідком хронічного опромінення як стресового впливу на клітини і проявом захисної реакції в адаптації штамів *P. aeruginosa* до стресових умов. Штам *P. aeruginosa* ІМВ 9024, у якого найбільше зростає і синтез піоціаніну, і піомеланіну одночасно з фітотоксичністю, має серед досліджених штамів найвищий рівень адапційної пластичності, зумовлений імовірно генетичними особливостями штаму, які дають змогу активувати захисні реакційні системи та зберігати агресивність заради виживання у складних умовах навколишнього середовища. Так, відомі властивості піомеланіну як хелатора заліза та урану, показано утворення піомеланіну автохтонними бактеріями в забрудненому ґрунті, посилення секвестрації урану мінералами гетитом та ілюмітом [27–29]. Чимало видів мікроорганізмів з їхньою еволюційною пластичністю можуть виступати і як корисні для агрокультури, і як стресори, що порушують рослинну фізіологію, і змінюють мікробно-ґрунтові спільноти [30].

Експресія піоціаніну та інших факторів вірулентності *P. aeruginosa* контролюється через

сигнали кворуму, і вплив сублетальної дози гамма-опромінення знижував рівень факторів вірулентності і відрізнявся від дії біоактивних метаболітів у штамів *P. aeruginosa* [15, 30, 31].

Рослино-асоційовані штами *P. aeruginosa* мають менші за розміром та більш спеціалізовані для метаболізму вуглеводів геноми порівняно з іншими представниками цього роду, що, ймовірно, пов'язано з адаптацією за рахунок горизонтального перенесення генів [31]. Бактерії також можуть контролювати обмін речовин у рослинах, зокрема мутації *P. aeruginosa* індують покращене поглинання азоту у рослин, накопичення заліза [30, 32–35].

Отже, стратегія виживання при високих дозах опромінення у бактерій може полягати в економії енергії через пригнічення агресивності і направлення ресурсів на ліквідацію пошкоджень, на відміну від низьких доз, як у нашому дослідженні, коли показана стимуляція синтезу факторів вірулентності. Показані нами зміни при поглинутій дозі $8,29 \cdot 10^{-2}$ Гр (8,29 сГр) та дані щодо ефектів сублетальної дози 1 кГр переконливо демонструють, що піоціанін відіграє ключову роль у процесах виживання та відновлення бактерій після опромінення, підвищення чутливості *P. aeruginosa* до кисневих вільних радикалів корелює з інгібуванням піоціаніну [31]. Ймовірно, що роль піоціаніну більш критична для виживання після дії гамма-радіації, ніж піомеланіну, який захищає клітини від УФ-С випромінювання.

АФК перешкоджають розвитку інфекції, тому можуть продукуватись організмами господарів або бути присутніми у дезінфектантах, а також утворюються при опроміненні [31, 36]. Бактерії захищаються за рахунок зміни генної експресії детоксифікуючих ферментів, а у *P. aeruginosa* у цьому беруть участь також і пігменти [36–39]. Продукція піоціаніну у *P. aeruginosa* корелює зі здатністю цього мікроорганізму ініціювати інфекційний процес, що може призводити до незворотних окиснювальних пошкоджень як клітин господаря, так і самих бактерій. *P. aeruginosa* використовує кілька механізмів для нейтралізації автоінтоксикаційних ефектів піоціаніну, тому рівень його токсичності значною мірою залежить від умов довкілля [31, 36]. Асоційовані з рослинами штами *Pseudomonas* володіли найменшою кількістю механізмів стійкості до стресових факторів – навіть меншою, ніж у штамів, ізольованих із ґрунту. Це свідчить про те, що рослинне середовище захищає бактерії від впливу абіотичних стресів або мікробної конкуренції [38].

Гамма-промені стимулюють утворення АФК через збудження ендогенних фотосенсибілізуючих сполук, які природно присутні в мікробних клітинах, або вивільнення синглетного кисню та гідроксильних радикалів з культур бактерій, що ростуть, і це призводить до руйнування клітин-мішеней та різних клітинних компонентів [31, 40]. Такий «руйнівний шторм» знижує патогенність, і повне пригнічення піоціаніну було виявлено в усіх штамів *P. aeruginosa* за умов оксидативного стресу, індукованого гамма-променями [31].

Чимало бактеріальних та грибних патогенів індукують пошкодження подвійної спіралі ДНК у рослин-господарів, таким чином, рослинний імунітет та відновлення пошкодженої ДНК взаємопов'язані [40]. Для подолання наслідків пошкоджень у бактерій активуються адаптивні системи захисту і відновлення (репарації, репопуляції) та спряжені з ними системи експресії факторів патогенності.

Системний вплив опромінення на мікробні угруповання підтверджують дослідження вологих біотопів Чорнобильської зони, де встановлено, що структура мікробних угруповань переважно залежить від рівнів радіації [41]. Низка бактеріальних та архейних таксонів виявляли вищу чисельність на ділянках з підвищеним радіаційним фоном, багато з яких раніше вже були охарактеризовані як такі, що здатні успішно колонізувати інші зони з високою радіоактивністю [41]. Мікробіоми, асоційовані з багатоклітинними організмами (рослинами й тваринами), що мешкають у цих високорадіоактивних середовищах, можуть безпосередньо формуватися з локальних мікробних спільнот [41].

Отже, опромінення змінює мікрофлору, при високих дозах радіаційний фактор стає визначальним, однак і за низьких доз при хронічному опроміненні модифікуються патогенні властивості мікроорганізмів, оскільки еволюційно опромінення є неспецифічним стресовим впливом, який опосередковується через систему АФК, що тісно пов'язана з факторами вірулентності. Інтенсивне утворення токсичних продуктів, до яких належить піоціанін, викликає швидку загибель рослинних клітин і перешкоджає розвитку захисних реакцій у рослин. Одержані результати свідчать, що зростання патогенності бактерій при дії хронічного опромінення може бути пов'язане із синтезом бактеріями *P. aeruginosa* піоціаніну, індукованим АФК як наслідком опромінення та кворумним сигналінгом при підключенні адаптивних захисних реакцій.

Таким чином, низькоінтенсивне хронічне опромінення бактерій *P. aeruginosa* може посилювати або послаблювати їхню фітотоксичність,

здатне модифікувати їхні взаємодії з рослинами. Виявлена стимуляція фітотоксичності бактерій дає змогу припустити, що у бактерій *P. aeruginosa*, які можуть уражати різні види рослин, в ході еволюції сформувалися механізми підвищення агресивності у відповідь на неспецифічні стресові впливи. Прояви підвищеної фітотоксичної активності бактерій упродовж часу після зараження, який охоплює багато генерацій бактеріальних клітин, вказує на існування епігенетичних механізмів, що забезпечують підтримання експресії факторів патогенності бактерій у ряді поколінь.

Отже, показано, що хронічне опромінення бактерій у низьких дозах здатне спричинити значні зміни у взаєминах у системі «рослина - фітопатогенні бактерії», що необхідно враховувати під час моніторингу територій, які перебувають під загрозою радіоактивного забруднення або вже зазнали його впливу.

4. Висновки

1. Встановлено, що хронічне гамма-опромінення різних штамів бактерій *P. aeruginosa* низькою потужністю дози ($1,2 \cdot 10^{-7}$ Гр/с), за якого протягом 8 діб поглинута доза становила $8,29 \cdot 10^{-2}$ Гр (8,29 сГр), а бактерії проходили десятки послідовних генерацій, індукувало зміни фітотоксичності та експресії таких факторів патогенності, як піоціанін і піомеланін.

2. Опромінення фітопатогенних штамів *P. aeruginosa* ІМВ 9024 і ІМВ 9096 викликало підвищення їхньої фітотоксичної активності. Після опромінення фітопатогенний штам ІМВ 9095 змінював характер впливу з фітотоксичного на стимулювальний щодо росту. Хронічне гамма-опромінення *P. aeruginosa* стимулювало утворення пігменту піомеланіну у фітопатогенних штамів ІМВ 9024 та ІМВ 9096. Найбільша стимуляція синтезу піомеланіну була відмічена у штаму *P. aeruginosa* ІМВ 9024 з властивостями поліспецифічного патогену.

3. Отже, у штаму ІМВ 9024 домінує захисна стратегія: високий рівень піоціаніну супроводжується помірною фітотоксичністю, оскільки бактерії перенаправляють енергетичні ресурси на захист від окиснювального стресу замість ураження рослини. Це зумовлює зниження фітотоксичності та гіперпродукцію піоціаніну як редоксигнальної молекули і піомеланіну як антиоксиданту, що свідчить про адаптивну перебудову метаболізму. Вірулентна стратегія переважає у штаму ІМВ 9096 – збереження високої фітотоксичності при низькому рівні піоціаніну. Це дає змогу бактерії підтримувати інші фактори вірулентності, що особливо важливо для штамів рос-

линного походження. Штам ІМВ 9095 займає проміжне положення з помірними значеннями та мінімальним підвищенням піомеланіну, що може вказувати на нижчу пластичність редокс-регуляторів або енергетичний компроміс.

4. Хронічне низькодозове опромінення запускає компроміс між вірулентністю та виживанням – зниження енерговитратної продукції редокс-активного піоціаніну на користь антиоксидантного піомеланіну дає змогу бактерії адаптуватися

до постійного окисного навантаження, характерного для радіоактивно забруднених екосистем.

Хочемо із вдячністю згадати нині покійного старшого наукового співробітника відділу біофізики і радіобіології, учасника ліквідації наслідків аварії на Чорнобильській АЕС, кандидата біологічних наук М. І. Гуцу, який надав неоціненну допомогу у створенні дозового поля та опроміненні культур бактерій, без чого виконання цієї роботи було б неможливим.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ / REFERENCES

1. V. Kashparov et al. Environmental behaviour of radioactive particles from Chernobyl. *J. Environ. Radioact.* 208–209 (2019) 106025.
2. Y. Igarashi et al. Impact of wildfire on ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr wash-off in heavily contaminated forests in the Chernobyl exclusion zone. *Environ Pollut.* 259 (2020) 113764.
3. V.A. Prylypko et al. Impact of the Rivne NPP activity on natural and social environment of the control area. *Probl. Radiat. Med. Radiobiol.* 24 (2019) 131.
4. A.V. Kutsak. The modern state of problem of providing radio protection of Ukraine's population from natural release sources (review of literature). *Probl. Radiat. Med. Radiobiol.* 23 (2018) 49.
5. О.Ю. Паренюк, В.В. Ілленко, І.М. Гудков. *Мікрофлора забруднених радіонуклідами ґрунтів* (Київ: Нац. ун-т біоресурсів і природокористування України, 2018) 201 с. / O.Yu. Pareniuk, V.V. Illienko, I.M. Gudkov. *Microflora of Radionuclide-Contaminated Soils* (Kyiv: National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 2018) 201 p. (Ukr)
6. L. Zhang et al. X-Ray Irradiation of *Pseudomonas aeruginosa* induces biogenesis of outer-inner membrane vesicles with potential as a vaccine against acute pneumonia. *J. Extracell. Vesicles* 14(8) (2025) e70151.
7. G. Zeng et al. Plant – microorganism – soil interaction under long-term low-dose ionizing radiation. *Front. Microbiol.* 14 (2024) 1331477.
8. K. Sakauchi, J.M. Otaki. Soil microbes and plant-associated microbes in response to radioactive pollution may indirectly affect plants and insect herbivores: evidence for indirect field effects from Chernobyl and Fukushima. *Microorganisms* 12 (2024) 364.
9. I. Shuryak. Review of microbial resistance to chronic ionizing radiation exposure under environmental conditions. *J. Environ. Radioact.* 196 (2019) 50.
10. M. Boretska et al. Impact of γ -irradiation on biofilm formation by corrosion-relevant heterotrophic bacteria. *Scientific Reports of the National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine* 16(5) (2020).
11. D. Soghomonyan et al. The effects of low doses of gamma-radiation on growth and membrane activity of *Pseudomonas aeruginosa* GRP3 and *Escherichia coli* M17. *Cell Biochem. Biophys.* 76(1-2) (2018) 209.
12. Ольга Балко, Лілія Авдєєва, Олександр Балко. Етапи біоплівкоутворення *Pseudomonas aeruginosa*. *Ukr. Food J.* 2(1) (2013) 23. / Olga Balko, Liliya Avdeeva, Oleksandr Balko. Stages of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Ukr. Food J.* 2(1) (2013) 23. (Ukr)
13. Ю.В. Шиліна та ін. Вплив хронічного опромінення штамів ІМВ 9096 та ІМВ 8614 бактерій *Pseudomonas aeruginosa* на імуномодифікуючі властивості їхнього ліпополісахаридного комплексу. *Ядерна фізика та енергетика* 22(4) (2021) 375. / J.V. Shylina et al. Impact of chronic irradiation of IMV 9096 and IMV 8614 strains of *Pseudomonas aeruginosa* on immunomodulatory properties of their lipopolysaccharide complex. *Nucl. Phys. At. Energy* 22(4) (2021) 375. (Ukr)
14. H. Beyenal, S.N. Chen, Z. Lewandowski. The double substrate growth kinetics of *Pseudomonas aeruginosa*. *Enzyme Microb. Technol.* 32(1) (2003) 92.
15. A.A. Abdelaziz et al. *Pseudomonas aeruginosa*'s greenish-blue pigment pyocyanin: its production and biological activities. *Microb. Cell Fact.* 22 (2023) 110.
16. M. Styczynski et al. Heterologous production and characterization of a pyomelanin of Antarctic *Pseudomonas* sp. ANT_H4: a metabolite protecting against UV and free radicals, interacting with iron from minerals and exhibiting priming properties toward plant hairy roots. *Microb. Cell Fact.* 21 (2022) 261.
17. K.J. Reszka et al. Oxidation of pyocyanin, a cytotoxic product from *Pseudomonas aeruginosa*, by microperoxidase 11 and hydrogen peroxide. *Free Radic. Biol. Medic.* 36 (2004) 1448.
18. C.E. Turick, L.S. Tisa, F. Caccavo, Jr. Melanin production and use as a soluble electron shuttle for Fe(III) oxide reduction and as a terminal electron

- acceptor by *Shewanella algae* BrY. *Appl. Environ. Microbiol.* 68(5) (2002) 2436.
19. О.О. Берестецкий. Простий метод виявлення фітотоксичних речовин, утворюваних мікроорганізмами. *Мікробіол. журн.* 34 (1972) 798. / О.О. Berestetskyi. A simple method for detecting phytotoxic substances produced by microorganisms. *Microbiol. J.* 34 (1972) 798. (Ukr)
 20. L.F. Stahl et al. Ozonized oleic acid as a new viticultural treatment? Study of the effect of LIQUENSO® oxygenate on the carpoplane microbial community and wine microorganisms combining metabarcoding and in vitro assays. *Ecologies* 3(3) (2022) 292.
 21. X. Lai et al. Mixed application of microbial fertilizers reshapes the tobacco rhizosphere microbiome and enhances metabolic coordination to improve crop quality. *Front. Microbiol.* 16 (2025) 1726681.
 22. A. Duque-Jaramillo et al. The genetic and physiological basis of *Arabidopsis thaliana* tolerance to *Pseudomonas viridiflava*. *New Phytol.* 240 (2023) 1961.
 23. R. Ortiz-Castro et al. Pyocyanin, a virulence factor produced by *Pseudomonas aeruginosa*, alters root development through reactive oxygen species and ethylene signaling in *Arabidopsis*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 27(4) (2014) 364.
 24. L.A. Meirelles, D.K. Newman. Both toxic and beneficial effects of pyocyanin contribute to the lifecycle of *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol. Microbiol.* 110(6) (2018) 995.
 25. Z. Zeng et al. Biofilm formation and heat stress induce pyomelanin production in deep-sea *Pseudoalteromonas* sp. SM9913. *Front. Microbiol.* 8 (2017) 1822.
 26. F. Lorquin et al. New insights and advances on pyomelanin production: from microbial synthesis to applications. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 49(4) (2022) kuac013.
 27. C.E. Turick et al. In situ uranium stabilization by microbial metabolites. *J. Environ. Radioact.* 99(6) (2008) 890.
 28. M.F. Hamza et al. Functionalized biobased composite for metal decontamination – Insight on uranium and application to water samples collected from wells in mining areas (Sinai, Egypt). *Chem. Eng. J.* 431(1) (2022) 133967.
 29. S. Qin et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduct. Target. Ther.* 7 (2022) 199.
 30. S. Basu et al. Effects of microbial signaling in plant growth and development. In: R. Prasad, S.-H. Zhang (Eds.). *Beneficial Microorganisms in Agriculture. Environmental and Microbial Biotechnology* (Singapore, Springer, 2022) p. 329.
 31. R. Talaat et al. Quenching of quorum sensing in multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: insights on halo-bacterial metabolites and gamma irradiation as channels inhibitors. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 23 (2024) 31.
 32. J. López-Bucio et al. *Pseudomonas aeruginosa LasI*-dependent plant growth promotion requires the host nitrate transceptor AtNRT1.1/CHL1 and the nitrate reductases NIA1 and NIA2. *Planta* 258 (2023) 80.
 33. O. Shalev et al. Commensal *Pseudomonas* protect *Arabidopsis thaliana* from a coexisting pathogen via multiple lineage-dependent mechanisms. *ISME J.* 16 (2022) 1235.
 34. J. López-Hernández et al. Screening of phosphate solubilization identifies six *Pseudomonas* species with contrasting phyto-stimulation properties in *Arabidopsis* seedlings. *Microb. Ecol.* 86 (2023) 431.
 35. F. Ghadamgahi et al. Plant growth-promoting activity of *Pseudomonas aeruginosa* FG106 and its ability to act as a biocontrol agent against potato, tomato and taro pathogens. *Biology* 11 (2022) 140.
 36. W.S. da Cruz Nizer et al. Oxidative Stress Response in *Pseudomonas aeruginosa*. *Pathogens* 10(9) (2021) 1187.
 37. W.S. da Cruz Nizer et al. Oxidative stress responses in biofilms. *Biofilm* 23(7) (2024) 100203.
 38. Z. Saati-Santamaría et al. Comparative genomics of the genus *Pseudomonas* reveals host- and environment-specific evolution. *Microbiol. Spectr.* 10(6) (2022) e0237022.
 39. B.V. Tchadi et al. PqsE adapts the activity of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing transcription factor RhIR to both autoinducer concentration and promoter sequence identity. *J. Bacteriol.* 207(5) (2025) e0051624.
 40. S. Mishra et al. Complexity of responses to ionizing radiation in plants, and the impact on interacting biotic factors. *Sci. Total. Environ.* 924 (2024) 171567.
 41. E. Videvall, P. Burraco, G. Orizaola. Impact of ionizing radiation on the environmental microbiomes of Chernobyl wetlands. *Environ. Pollut.* 330 (2023) 121774.

J. Shylina¹, I. Zhuk^{1,*}, O. Molozhava², J. Shevchenko³

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

³*Syngenta Group AG, Basel, Switzerland*

*Corresponding author: ivzhukvi@gmail.com

**STUDY OF THE EFFECT OF CHRONIC GAMMA IRRADIATION ON THE PHYTOTOXICITY
OF PHYTOPATHOGENIC BACTERIA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
AND THE EXPRESSION OF THEIR VIRULENCE FACTORS**

The impact of chronic gamma irradiation (8 days, dose rate 12 $\mu\text{Gy/s}$, absorbed dose 8,29 cGy) on *Pseudomonas aeruginosa* strains IMV 9024, IMV 9095, and IMV 9096 was investigated. Irradiation of phytopathogenic strains IMV 9024 and IMV 9096 enhanced their phytotoxic activity, whereas in strain IMV 9095, it primarily promoted bacterial growth. In addition, irradiation stimulated pigment biosynthesis, notably the production of pyocyanin (in all examined strains, with the strongest effect in IMV 9024) and pyomelanin (in IMV 9024 and IMV 9096, most prominently in IMV 9024). The persistence of elevated phytotoxic activity across multiple bacterial generations following infection suggests the involvement of epigenetic regulatory mechanisms sustaining virulence factor expression. Collectively, these findings demonstrate that chronic low-dose irradiation can induce substantial alterations in plant–phytopathogen interactions.

Keywords: chronic gamma irradiation, *Pseudomonas aeruginosa* strains IMV 9024, IMV 9095, IMV 9096, pyocyanin, pyomelanin, phytotoxic activity.

Надійшла / Received 20.10.2025