

П.П. Зеленая<sup>1</sup>, Г.В. Гладка<sup>2</sup>, В.В. Шепелевич<sup>1</sup>, Ю.М. Юмына<sup>1\*</sup>,  
Н.В. Сенчило<sup>1</sup>, Л.М. Скивка<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – ННЦ «Институт биологии и медицины» Киевского национального университета имени Тараса Шевченко, ул. Владимирская, 64/13, Киев, 01601, Украина;

<sup>2</sup> – Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины, ул. академика Заболотного, 154, Киев 03143, Украина.

\* тел.0445213231, e-mail: juliayumuna@ukr.net

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМУ ИЗЛУЧЕНИЮ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ЭПИФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ИЗ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧАЭС

**Цель:** изучение чувствительности к УФ бактерий родов *Pseudomonas* и *Pantoea*, выделенных из эпифита растительных образцов 10 км зоны отчуждения Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС). **Методы:** Объектами исследования были выделенные из образцов эпифитной зоны растений 10 км зоны отчуждения ЧАЭС штаммы бактерий родов *Pantoea* и *Pseudomonas* и коллекционные штаммы *P. aeruginosa* УКМ В-907=АТСС 27853, *P. putida* УКМ В-115<sup>m</sup>=АТСС 12633, *P. agglomerans* УКМ В-1089<sup>m</sup>=АТСС 33248. Облучение микроорганизмов УФ проводили лампой БУФ-15,  $\lambda=254$  нм, продолжительность облучения от 1 до 15 мин (0–600 Дж/м<sup>2</sup>). Дозу облучения (Дж/м<sup>2</sup>) определяли с помощью дозиметра ДДУ-81. **Результаты:** показатели выживаемости клеток при дозовой нагрузке 40 Дж/м<sup>2</sup> для исследуемых эпифитных штаммов *Pantoea* sp. Н8 и *Pantoea* sp. pigment находились в диапазоне от [-0,41 lg%] до [1,34 lg%]. Значения ЛД<sub>50</sub> для этих микроорганизмов были в среднем в 2,5 раза ниже аналогичных значений для клеток музейного штамма. Для исследуемых эпифитных микроорганизмов *Pantoea* sp. Н7 и *Pseudomonas* sp. Р14 показатели выживаемости при дозовой нагрузке 40 Дж/м<sup>2</sup> находились в диапазоне от [1,77 lg%] до [1,94 lg%]. ЛД<sub>50</sub> для *Pseudomonas* sp. Р14 в 3,8 раза превышала показатель музейного штамма *P. putida* АТСС 12633, ЛД<sub>50</sub> для *Pantoea* sp. Н7 была на 12,5% выше показателя соответствующего референтного штамма. Облучение в диапазоне доз 85,5±15,8 Дж/м<sup>2</sup> приводило к гибели 99,99% клеток всех взятых в опыт штаммов. **Выводы:** сообщество эпифитных бактерий родов *Pseudomonas* и *Pantoea* из 10 км зоны отчуждения ЧАЭС гетерогенно по признаку чувствительности к УФ. Для бактерий рода *Pantoea* характерна дивергенция чувствительности к данному стрессору, тогда как в популяции исследованных эпифитных псевдомонад преобладают микроорганизмы, толерантные к УФ излучению в диапазоне доз до 40 Дж/м<sup>2</sup>.

**Ключевые слова:** эпифитные микроорганизмы, ультрафиолет, множественная стресс-толерантность.



Эпифитные микроорганизмы играют важную роль в физиологии растительного организма, выделяя витамины, ауксины, гиббереллины, которые влияют на ряд жизненно важных метаболических процессов, а также усиливают естественный иммунитет растений [7, 10, 13]. Феномен множественной стресс-толерантности микроорганизмов является одним из наименее изученных аспектов их физиологии. Особый интерес представляет стресс-чувствительность эпифитных микроорганизмов в свете современных программ по внедрению на землях, подвергшихся техногенному, в том числе радиационному, загрязнению, экологически безопасных технологий выращивания сельскохозяйственных культур [6, 9]. Постоянная экспозиция эпифитных микроорганизмов ионизирующим излучением влияет не только на состав микробных ценозов, но и приводит к изменениям эколого-физиологических свойств бактерий, в том числе их чувствительности к другим стресс-факторам. Изменение свойств микроорганизмов может сопровождаться приобретением признаков, способных влиять на характер растительно-микробного взаимодействия [5, 11].

При хроническом воздействии малых доз радиации исследуемые микроорганизмы являются наиболее уязвимой мишенью [2]. По этой причине особый интерес вызывают бактерии, выделенные из эпифитной зоны растений, произрастающих в зоне хронического влияния низкодозового радиационного излучения. Бактерии родов *Pantoea* и *Pseudomonas* являются преобладающими микроорганизмами в филлосфере растений. Для них характерно динамичное изменение метаболических реакций в ответ на действие факторов окружающей среды [7, 10, 13]. *P. putida* — часто встречающаяся сапрофитная грамотрицательная бактерия, широко используемая в технологиях биоремедиации [9]. Пигменты, свойственные псевдомонадам, выполняет функцию защиты микроорганизмов от негативного воздействия ультрафиолета [10].

Целью работы было изучение чувствительности к УФ (ультрафиолетовому излучению) бактерий родов *Pseudomonas* и *Pantoea*, выделенных из эпифита растительных образцов 10 км зоны отчуждения Чернобыльской атомной электростанции (ЧАЭС).

### Материалы и методы

Объектами исследования были выделенные из образцов эпифитной зоны растений 10 км зоны отчуждения ЧАЭС штаммы *Pantoea sp. pigment* (образует 70% пигментированных желтых и 30% беспигментных колоний), *Pantoea sp. H8* (образует беспигментные колонии), *Pantoea sp. H7* (образует беспигментные мукоидные колонии); *Pseudomonas sp. P14* (образует мукоидные колонии бежевого цвета и колонии бежевого цвета). Исследуемые бактерии изолированы из цветков *Oenothera sp.* (ослиник двулетний, энотера). Образцы растений отобраны в районе полигона «Чистогаливка», содержание радионуклеотидов в 5 см верхнего слоя грунта составляло  $20650 \pm 1050$  Бк/кг по  $^{137}\text{Cs}$  и  $5180 \pm 550$  Бк/кг по  $^{90}\text{Sr}$ . Растительные образцы были предоставлены сотрудниками Института клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины.



Для сравнения использовали штаммы, полученные из Украинской коллекции микроорганизмов *P. aeruginosa* УКМ В-907=АТСС 27853, *P. putida* УКМ В-115<sup>†</sup>=АТСС 12633, *P. agglomerans* УКМ В-1089<sup>†</sup>=АТСС 33248.

Цитоморфологические характеристики эпифитных микроорганизмов изучали методом трансмиссионной электронной микроскопии (Electronic microscope Jeol 1400, Japan).

Облучение микроорганизмов УФ проводили, как описано Vasileva-Tonkova et al. [12]. Десятикратные разведения (от  $10^{-2}$  до  $10^{-9}$ ) суточных микробных суспензий вносили по 0,1 мл на чашки Петри с агаризованной средой МПА и равномерно распределяли шпателем по всей поверхности. Открытые чашки помещали на расстоянии 1 м от источника облучения (лампа БУФ-15,  $\lambda=254$  нм, Украина). Продолжительность УФ облучения – от 1 до 15 мин (0-600 Дж/м<sup>2</sup>). Дозу облучения (Дж/м<sup>2</sup>) определяли с помощью дозиметра ДАУ-81 (Россия). После облучения чашки инкубировали при температуре 27 °С. УФ облучение и дальнейшую инкубацию облученных бактерий проводили в темноте, чтобы избежать фоторепарации. Подсчет выросших на чашках колоний проводили через 2 суток. Опыты проводили в 3-х повторностях.

Влияние УФ облучения на выживаемость бактерий оценивали по изменению процентного содержания выживших клеток от их исходного количества. После логарифмирования каждой величины выживаемости, вычисляли среднее ( $M$ ), доверительный интервал ( $m=\delta t$ ) по каждой дозе УФ с доверительной вероятностью  $p \leq 0,05$  [1]. Для сравнения чувствительности к УФ различных монокультур, на дозовых кривых, представляющих зависимость количества выживших клеток от доз УФ, вычислены ЛД<sub>50</sub>, ЛД<sub>90</sub>, ЛД<sub>99</sub> и ЛД<sub>99,99</sub>. Сравнение выборочных средних в дозозависимых группах проводили с помощью критерия Стьюдента с вычислением средней величины ( $M$ ), доверительного интервала средней величины ( $\pm m$ ), принимая  $p \leq 0,05$  за достоверный уровень значимости.

Для статистической обработки данных использованы пакеты статистических программ электронных таблиц EXEL 2013 и STATISTIKA 7.0.

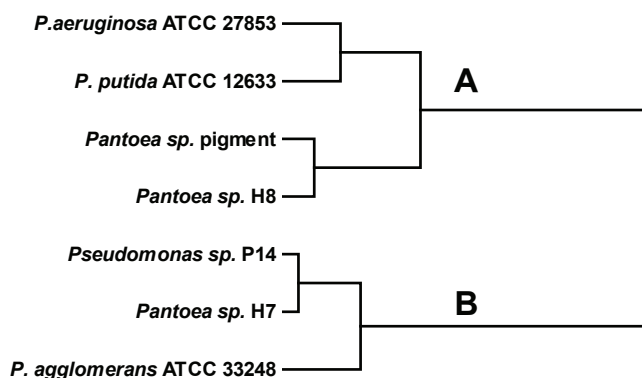
### Результаты и их обсуждение

Преобладающими грамотрицательными микроорганизмами в эпифитной зоне цветков *Oenothera sp.* были бактерии родов *Pseudomonas* и *Pantoea*. Результаты биохимической идентификации, а также анализа морфолого-культуральных и физиологических свойств выделенных изолятов описаны нами ранее [8].

Анализ распределения исследуемых бактерий по критерию относительной выживаемости в диапазоне действия доз УФ от 0 до 600 Дж/м<sup>2</sup> показал, что они разделяются на две подгруппы А и В (рис. 1). В подгруппу А вошли коллекционные штаммы рода *Pseudomonas*, а также штаммы рода *Pantoea sp.* Н8 и *Pantoea sp.* pigment. В подгруппу В включены музейный штамм *P. agglomerans* АТСС 33248, штаммы *Pantoea sp.* Н7 и *Pseudomonas sp.* Р14 зоны отчуждения. Как показано на рис. 2 показатели выживаемости клеток при дозовой нагрузке 40 Дж/м<sup>2</sup> для микроорганизмов подгруппы А находились в



диапазоне от [-0,41 lg%] до [1,34 lg%]. При этом значения  $LD_{50}$  для всех микроорганизмов этой подгруппы были значительно меньше 40 Дж/м<sup>2</sup>. При той же дозовой нагрузке показатели выживаемости микроорганизмов подгруппы В находились в диапазоне от [1,77 lg%] до [1,94 lg%]. Для микроорганизмов этой подгруппы отличительной особенностью были значения  $LD_{50} \geq 40$  Дж/м<sup>2</sup>.



**Рис. 1** Дивергенция грамотрицательных бактерий по критерию выживаемости (%) при облучении УФ в диапазоне доз от 0 до 600 Дж/м<sup>2</sup>.

А – средняя выживаемость при дозовой нагрузке 40 Дж/м<sup>2</sup> 11,7±9,2% клеток ( $LD_{50} < 40$  Дж/м<sup>2</sup>); В – средняя выживаемость при дозовой нагрузке 40 Дж/м<sup>2</sup> 75,9±15,1% клеток ( $LD_{50} \geq 40$  Дж/м<sup>2</sup>).

**Fig.1.** Divergence of gram-negative bacteria survival (%) after the irradiation with UV over the dose range 0 to 600 J/m<sup>2</sup>.

A – average survival rate at the dose of 40 J/m<sup>2</sup> is 11,7±9,2% ( $LD_{50} < 40$  J/m<sup>2</sup>), B – average survival rate at the dose of 40 J/m<sup>2</sup> is 75,9±15,1% ( $LD_{50} \geq 40$  J/m<sup>2</sup>).

Наивысшая среди всех исследованных культур выживаемость клеток зарегистрирована у микроорганизмов штамма *Pantoea sp. H7*. На кладограмме (рис. 1) показано, что остальные штаммы рода *Pantoea* попали в подгруппу А, с показателями выживаемости клеток ниже, чем у музейного штамма *P. agglomerans* ATCC 33248. Самые низкие показатели выживаемости оказались у коллекционных бактерий рода *Pseudomonas*. В отличие от музейных штаммов, показатели выживаемости клеток у штамма *Pseudomonas sp. P14* были близки к показателям, характерным для клеток штамма *Pantoea sp. H7*. По этому критерию штамм зоны отчуждения значительно отличался от микроорганизмов своего рода (рис. 1).

Более детальный анализ характера кривых выживаемости клеток и устойчивости к УФ радиации исследуемых микроорганизмов показал, что облучение в диапазоне доз 85,5±15,8 Дж/м<sup>2</sup> приводило к гибели 99,99% клеток всех исследуемых штаммов, что характеризует изученные бактерии как чувствительные к действию УФ (рис. 2).

Экспоненциальность кривой выживаемости *P. aeruginosa* ATCC 27853 в дозовом диапазоне до 80 Дж/м<sup>2</sup> указывает на однородность по чувствительности

к действию УФ большей части клеток популяции (рис. 2А). Такой тип кривой был характерен только для этого штамма исследуемых микроорганизмов. Дозовая кривая клеток *P. putida* ATCC 12633 имела более пологий наклон, чем у штамма *P. aeruginosa* ATCC 27853 в диапазоне доз УФ до 40 Дж/м<sup>2</sup>, и занимала промежуточное положение среди графиков музейных культур. Можно предположить, что в популяции штамма *P. putida* ATCC 12633 аккумулировалось большее количество клеток, обладающих необходимыми механизмами защиты от действия этого диапазона доз УФ, чем в популяции штамма *P. aeruginosa* ATCC 27853.

В популяции микроорганизмов коллекционного штамма *P. putida* ATCC 12633 количество клеток, устойчивых к действию УФ этого диапазона доз, в среднем на 8,5% выше, чем у бактерий штамма *P. aeruginosa* ATCC 27853. Летальные дозы УФ для микроорганизмов штамма *P. putida* ATCC 12633 были достоверно выше, чем для *P. aeruginosa* ATCC 27853 (табл. 1).

Таблица 1

**Показатели устойчивости к УФ бактерий, изолированных из растений образцов зоны отчуждения ЧАЭС**

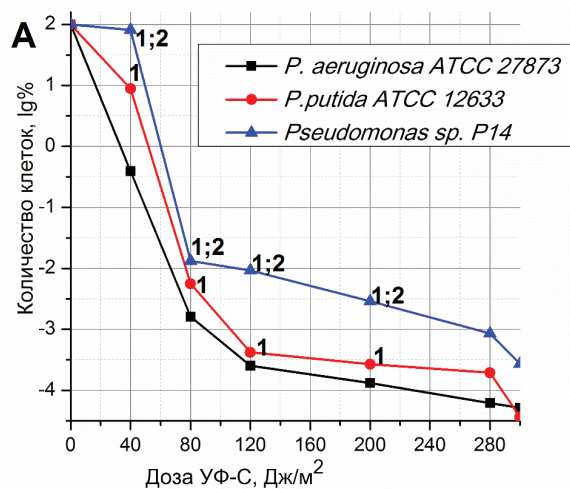
Table 1

**Indices of UV sensitivity of bacteria isolated from epiphyte plant samples in Chernobyl Exclusion Zone**

Штамм	Летальные дозы УФ, Дж/м <sup>2</sup>			
	ЛД <sub>50</sub>	ЛД <sub>90</sub>	ЛД <sub>99</sub>	ЛД <sub>99,99</sub>
<i>Pantoea agglomerans</i> ATCC 33248	40,3±0,5 <sup>1:2</sup>	47,3±0,5 <sup>1:2</sup>	56,3±1,0 <sup>1:2</sup>	75,0±1,0 <sup>1</sup>
<i>Pantoea</i> sp. Pigment	14,3±0,5 <sup>5</sup>	42,3±0,5 <sup>4</sup>	58,3±1,0	76,3±0,6
<i>Pantoea</i> sp. H7	45,0±1,0 <sup>4:6:7</sup>	56,3±0,5 <sup>5:6:7</sup>	74,0±1,0 <sup>5:6:7</sup>	113,3±0,6 <sup>5</sup>
<i>Pantoea</i> sp. H8	19,7±3,0 <sup>5:6</sup>	44,3±2,0 <sup>3</sup>	57,0±2,0	95,6±10,1 <sup>3</sup>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	5,0±0,3	15,5±1,3	33,3±0,5	66,7±1,2
<i>Pseudomonas putida</i> ATCC 12633	11,3±1,8 <sup>1</sup>	39,3±1,0 <sup>1</sup>	51,0±2,0 <sup>1</sup>	77,0±1,0 <sup>1</sup>
<i>Pseudomonas</i> sp. P14	43,0±1,0 <sup>1:2</sup>	50,3±0,5 <sup>1:2</sup>	60,7±0,5 <sup>1:2</sup>	80,3±0,6 <sup>1</sup>

Примечание: <sup>1</sup>p≤0,001 по сравнению с *P. aeruginosa* ATCC 27853; <sup>2</sup>p≤0,01 по сравнению с *P. putida* ATCC 12633; <sup>3</sup>p≤0,05, <sup>4</sup>p≤0,01, <sup>5</sup>p≤0,001 по сравнению с *P. agglomerans* ATCC 33248; <sup>6</sup>p≤0,01 по сравнению с *Pantoea* sp. (pigment); <sup>7</sup>p≤0,01 по сравнению с *Pantoea* sp. H8. Note: <sup>1</sup>p≤0,001 compared with *P. aeruginosa* ATCC 27853; <sup>2</sup>p≤0,01 compared with *P. putida* ATCC 12633; <sup>3</sup>p≤0,05, <sup>4</sup>p≤0,01, <sup>5</sup>p≤0,001 compared with *P. agglomerans* ATCC 33248; <sup>6</sup>p≤0,01 compared with *Pantoea* sp. (pigment); <sup>7</sup>p≤0,01 compared with *Pantoea* sp. H8.





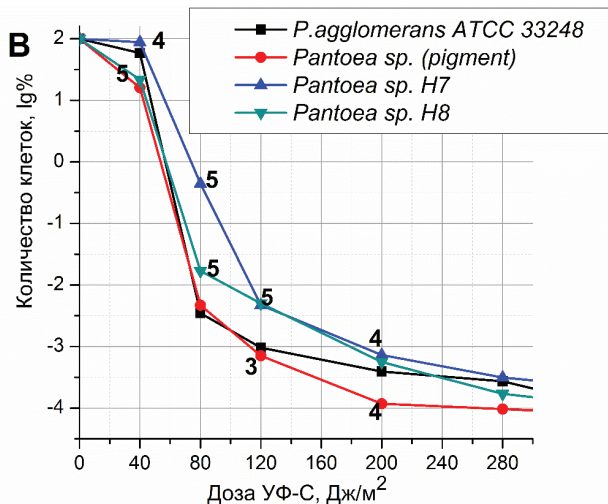
**Рис. 2. Дозовая зависимость влияния УФ на выживаемость бактерий родов *Pseudomonas* (А) и *Pantoea* (В).**

Примечание: <sup>1</sup>p ≤ 0,001 по сравнению с *P. aeruginosa* ATCC 27853; <sup>2</sup>p ≤ 0,01

по сравнению с *P. putida* ATCC 12633; <sup>3</sup>p ≤ 0,05, <sup>4</sup>p ≤ 0,01, <sup>5</sup>p ≤ 0,001 по сравнению с *P. agglomerans* ATCC 33248.

**Fig. 2. Dose dependence of the effect of UV on the survival of bacteria of the bacterial genera *Pseudomonas* (A) and *Pantoea* (B).**

Note: <sup>1</sup>p ≤ 0,001 compared with *P. aeruginosa* ATCC 27853; <sup>2</sup>p ≤ 0,01 compared with *P. putida* ATCC 12633; <sup>3</sup>p ≤ 0,05, <sup>4</sup>p ≤ 0,01, <sup>5</sup>p ≤ 0,001 compared with *P. agglomerans* ATCC 33248.



Дозовая кривая эпифитного штамма *Pseudomonas sp.* P14 имела сигмоидную форму, с образованием плеча репарации в диапазоне доз до 40 Дж/м<sup>2</sup>. Эту дозовую нагрузку пережило 81,1±1% клеток, что на 80,7% и на 72,4% больше, чем для микроорганизмов штаммов *P. aeruginosa* ATCC 2785 и *P. putida* ATCC 12633, соответственно. ЛД-показатели для клеток штамма *Pseudomonas sp.* P14 были достоверно выше по сравнению с контрольными бактериями рода *Pseudomonas* (табл. 1). Полученные данные позволяют предположить, что бактерии эпифитного штамма *Pseudomonas sp.* P14 более адаптированы к действию УФ по сравнению с микроорганизмами музейных штаммов рода *Pseudomonas*.

Согласно литературным данным, бактерии рода *Pantoea* проявляют большую устойчивость к действию ионизирующих излучений по сравнению с другими грамотрицательными микроорганизмами [4]. При облучении УФ, сигмоидный характер кривой выживаемости клеток штамма *P. agglomerans* ATCC 33248 с пологим наклоном в диапазоне доз до 40 Дж/м<sup>2</sup> говорит о существенных различиях в чувствительности клеток в пределах популяции

к действию этого диапазона доз УФ (рис. 2В). Сигмоидный тип кривых выживания был характерен для всех бактерий рода *Pantoea*.

Доля клеток, выживших после облучения дозой 40 Дж/м<sup>2</sup> у бактерий штамма *P. agglomerans* ATCC 33248 составляла 58,7±1%. Летальные дозы УФ для клеток этого штамма были достоверно выше аналогичных показателей для музейных штаммов рода *Pseudomonas* (табл.1). Полученные нами результаты согласуются с литературными данными о радиорезистентности бактерий родов *Pseudomonas* и *Pantoea* [4, 6].

Как показано на рис. 2В, клетки штамма *Pantoea sp.* Н7 формировали плечо репарации в диапазоне доз до 40 Дж/м<sup>2</sup>. Дозовую нагрузку в 40 Дж/м<sup>2</sup> пережило 87,8±1,3% (1,94 lg%) клеток этого штамма, что на 29% больше, чем у микроорганизмов коллекционного штамма *P. agglomerans* ATCC 33248. Летальные дозы УФ для клеток *Pantoea sp.* Н7 были достоверно выше как по сравнению с аналогичными показателями музейного штамма, так и в сравнении с другими эпифитными штаммами рода *Pantoea* (табл. 1). Для графиков зависимости выживаемости клеток от дозы УФ у бактерий штаммов *Pantoea sp. pigment* и *Pantoea sp.* Н8 характерно увеличение наклона кривой выживаемости в диапазоне доз до 40 Дж/м<sup>2</sup> по сравнению с графиком контрольного штамма, то есть клетки этих эпифитных штаммов были похожими по чувствительности к действию УФ (рис. 2В). Для клеток этих двух штаммов показатели ЛД<sub>50</sub> и ЛД<sub>90</sub> были ниже, а показатели ЛД<sub>99</sub> не отличались от таковых для контрольного штамма. При этом абсолютная смертельная доза для клеток штамма *Pantoea sp.* Н8 достоверно выше аналогичного показателя для клеток контрольного штамма (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о том, что клетки изученных эпифитных штаммов *Pantoea* различались по признаку чувствительности к действию УФ в сравнении с контрольным штаммом этого рода. Бактерии *Pantoea sp.* Н7 оказались менее чувствительными к действию УФ в узком диапазоне доз по сравнению с музейным штаммом *P. agglomerans* ATCC 33248, в отличие от двух других эпифитных штаммов этого рода. Кроме того, можно предположить, что чувствительность *Pantoea sp. pigment* к действию УФ не зависит от способности к синтезу каротиноидного пигмента, т.к. штамм, обладающий способностью его образовывать, характеризовался относительно высокой УФ-чувствительностью.

Таким образом, результаты изучения влияния УФ на выживаемость исследуемых микроорганизмов, изолированных из эпифита цветков *Oenothera sp.*, произрастающих в зоне отчуждения, показали, что сообщество эпифитных бактерий гетерогенно по признаку чувствительности к данному стрессору. Для эпифитных микроорганизмов рода *Pantoea* характерно внутривидовое разнообразие по признаку УФ-чувствительности. Для бактерий эпифитного штамма *Pseudomonas sp.* Р14 показатели выживаемости клеток, а также летальные дозы ультрафиолета значительно превышали аналогичные показатели для клеток музейных штаммов, что свидетельствует в пользу накопления в эпифитной зоне *Oenothera sp.* зоны отчуждения бактерий, толерантных к действию УФ в дозовом диапазоне до 40 Дж/м<sup>2</sup>.



П.П.Зелена<sup>1</sup>, Г.В. Гладка<sup>2</sup>, В.В. Шепелевич<sup>1</sup>, Ю.М. Юмина<sup>1\*</sup>,  
Н.В. Сенчило<sup>1</sup>, Л.М. Сківка<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – ННЦ «Інститут біології і медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, місто Київ, 01601, Україна;

<sup>2</sup> – Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, вул. академіка Заболотного, 154, Київ 03143, Україна.

\* тел.0445213231, e-mail: juliayumuna@ukr.net

## ЧУТЛИВІСТЬ ДО УЛЬТРАФІОЕТОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ ГРАМНЕГАТИВНИХ ЕПІФІТНИХ БАКТЕРІЙ З ЗОНИ ВІДЧУЖЕННЯ ЧАЕС

### Реферат

**Мета:** вивчення чутливості до УФ бактерій родів *Pseudomonas* та *Pantoea*, виділених з епіфіту рослинних зразків 10 км зони відчуження Чорнобильської атомної електростанції (ЧАЕС). **Методи:** Об'єктами дослідження були виділені зі зразків епіфітної ділянки рослин 10 км зони відчуження ЧАЕС штами бактерій родів *Pantoea* і *Pseudomonas* та колекційні штами *P. aeruginosa* УКМ В-907=АТСС 27853, *P. putida* УКМ В-115<sup>m</sup>=АТСС 12633, *P. agglomerans* УКМ В-1089<sup>m</sup>=АТСС 33248. Опромінення мікроорганізмів УФ проводили лампою БУФ-15,  $\lambda=254$  нм, тривалість опромінення від 1 до 15 хв (0-600 Дж/м<sup>2</sup>). Дозу опромінення (Дж/м<sup>2</sup>) визначали за допомогою дозиметру ДАУ-81. **Результати:** показники виживаності клітин за дозового навантаження 40 Дж/м<sup>2</sup> для досліджених епіфітних мікроорганізмів *Pantoea* sp. Н8 та *Pantoea* sp. pigment були в діапазоні від [-0,41 lg%] до [1,34 lg%]. Значення ЛД<sub>50</sub> для цих мікроорганізмів були в середньому в 2,5 разу нижчими від аналогічних значень для клітин музейного штаму. Для досліджених епіфітних мікроорганізмів штампів *Pantoea* sp. Н7 та *Pseudomonas* sp. Р14 показники виживаності за дозового навантаження 40 Дж/м<sup>2</sup> були в діапазоні від [1,77 lg%] до [1,94 lg%]. ЛД<sub>50</sub> для *Pseudomonas* sp. Р14 у 3,8 разу перевищувала показник музейного штаму *P. putida* АТСС 12633, ЛД<sub>50</sub> для *Pantoea* sp. Н7 була на 12,5% вищою за показник відповідного референтного штаму. Опромінення в діапазоні доз 85,5±15,8 Дж/м<sup>2</sup> спричиняло загибель 99,99% клітин усіх взятих у дослід штампів. **Висновки:** угруповання епіфітних бактерій родів *Pseudomonas* та *Pantoea* з 10 км зони відчуження ЧАЕС гетерогенне за ознакою чутливості до УФ. Для бактерій роду *Pantoea* характерна дивергенція чутливості до даного стресору, у той час як у популяції досліджених епіфітних псевдомонад переважають мікроорганізми, толерантні до УФ випромінювання в діапазоні доз до 40 Дж/м<sup>2</sup>.

**Ключові слова:** епіфітні мікроорганізми, ультрафіолет, множинна стрес-толерантність.





**P. Zelena<sup>1</sup>, G. Gladka<sup>2</sup>, V. Shepelevych<sup>1</sup>, Yu. Yumyna<sup>1</sup>, N. Senchylo,  
L. Skivka<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, NSC "Institute of Biology" 64/13,  
Volodymyrska Str., Kyiv, Ukraine, 01601

<sup>2</sup>Institute of Microbiology and Virology NASU of Ukraine, 154, Zabolotny str., Kyiv, 03143 Ukraine  
\* тел.0445213231, e-mail: juliayumuna@ukr.net

## **SENSITIVITY TO UV-C OF GRAMNEGATIVE EPIPHYTIC BACTERIA FROM CHERNOBYL EXCLUSION ZONE**

### **Summary**

**Aim:** to study the sensitivity to UV of the bacterial genera *Pseudomonas* and *Pantoea* from the epiphyte of plant samples from 10 km of Chernobyl Exclusion Zone (CEZ).

**Methods:** The objects of the study were the strains of bacteria of the genera *Pantoea* and *Pseudomonas* isolated from plant epiphyte samples from 10 km of CEZ and the collection strains of *P. aeruginosa* UKM B-907 = ATCC 27853, *P. putida* UKM B- B-115<sup>m</sup> = ATCC 12633, *P. agglomerans* UKM B – B-1089<sup>m</sup> = ATCC 33248. UV irradiation of microorganisms was carried out using BUF-15 lamp,  $\lambda = 254$  nm, exposure time from 1 to 15 min (0–600 J / m<sup>2</sup>). The dose of irradiation (J / m<sup>2</sup>) was determined using a DAU-81 dosimeter. **Results:** Indices of UV sensitivity at the dose of 40 J/m<sup>2</sup> for investigated epiphytic strains *Pantoea* sp. H8 and *Pantoea* sp. pigment were over the range from [-0.41 lg%] to [1.34 lg%]. LD<sub>50</sub> for these microorganisms were 2.5 times lower than that for corresponding museum strain. Indices of UV sensitivity at the dose of 40 J/m<sup>2</sup> for microorganisms from the strains *Pantoea* sp. H7 and *Pseudomonas* sp. P14 were over the range from [1.77 lg%] до [1.94 lg%]. LD<sub>50</sub> for *Pseudomonas* sp. P14 was 3.8 times higher than that for reference bacteria *P. putida* ATCC 12633, and LD<sub>50</sub> for *Pantoea* sp. H7 was 12.5% higher than that for corresponding reference strain. Irradiation over the dose range 85.5±15.8 J/m<sup>2</sup> resulted in 99.99% cell death rate for all investigated strains. **Conclusion:** community of epiphytic bacteria of the genera *Pseudomonas* and *Pantoea* from 10 km of CEZ is heterogeneous in its sensitivity to UV. Bacteria of the genus *Pantoea* are characterized by the divergence of the sensitivity to this stressor, whereas epiphytic pseudomonads were represented by microorganisms that were tolerant to the UV radiation over the dose range 0–40 J/m<sup>2</sup>.

*Key words:* epiphytic bacteria, UV, multiple stress-tolerance.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Захаров И.А., Кожин С.А., Кожина Т.Н., Федорова ИВ. Сборник методик по генетике дрожжей-сахаромицетов / – Л.: Наука, 1984. – 144с.
2. Красавин Е.А. Факторы, определяющие характер кривых выживания бактерий *Escherichia coli* при действии излучений с разной линейной передачей энергии. Особенности организации генома и форма кривых выживания / Объединенный институт ядерных исследований/ Дубна, 1984. – 12 с.
3. Милько Е.С., Котова И.Б., Нетрусов А.Б. Процесс диссоциации у бактерий: Учебное пособие – М.: МАКС Пресс, 2007. – 68 с.
4. Dussault D., Caillet S., Le Tien C., Lacroix M. / Carotenoids' influence on radiotolerance of *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen // Lett. Appl. Microbiol. – 2008. – Vol. 47. – P. 208–213.



5. Egorova A.S., Gessler N.N., Ryazanova L.P., Kulakovskaya T.V., Belozerskaya T.A. Stress Resistance Mechanisms in the Indicator Fungi from Highly Radioactive Chernobyl Zone Sites // *Mikrobiologiya*. – 2015. – 84(2). – P. 184–191.

6. *Environmental remediation and restoration of contaminated nuclear and NORM sites.* / edited by Leo van Velzen. – London: Woodhead Publishing, 2015. – 261 p.

7. Farrar K., Bryant D., Cope-Selby N. Understanding and engineering beneficial plant-microbe interactions: plant growth promotion in energy crops // *Plant Biotechnol. J.* – 2014. – V. 12, No. 9. – P. 1193–1206.

8. Halloom A.A., Zelena P., Shevchenko J., Berezhna V., Shilina J., Gusha M., Molozhava O., Umina I., Shepelevych V., Voychuk S. Phytopathogenic activity of bacteria found in plants gathered in areas with radioactive contamination. // Proceeding of the conference «The top actual researches in modern science». (Dubai, July, 2015): Rost Publishing, 2015. – Vol. II. – P. 37–45.

9. Ibrahim M., Adrees M., Rashid U., Raza S.H., Abbas F. Chapter 21 Phytoremediation of radioactive contaminated soils // In book: *Soil Remediation and Plants*, Publisher: Academic Press, Editors: Khalid Rehman, Hakeem Muhammad, Sabir Münir, Öztürk Ahmet, Ruhi Mermut. – 2015. – P. 599-627. doi: 10.1016/B978-0-12-799937-1.00021-8.

10. Rastogi G., Coaker G.L., Leveau J.H. New insights into the structure and function of phyllosphere microbiota through high-throughput molecular approaches // *FEMS Microbiol Lett.* – 2013. – 348(1). – P. 1–10. doi: 10.1111/1574-6968.12225.

11. Shukla M., Chaturvedi R., Tamhane D., Vyas P., Archana G., Apte S., Bandekar J, Desai A. Multiple-stress tolerance of ionizing radiation-resistant bacterial isolates obtained from various habitats: correlation between stresses // *Curr Microbiol.* – 2007. – 54(2). – P. 142–148.

12. Vasileva-Tonkova E., Romanovskaya V., Gladka G., Gouliamova D., Tomova I., Stoilova-Disheva M., Tashyrev O. Ecophysiological properties of cultivable heterotrophic bacteria and yeasts dominating in phytocenoses of Galindez Island, maritime Antarctica // *World J. Microbiol. Biotechnol.* – 2014. – 30. – P. 1387–1398.

13. Vorholt J.A. Microbial life in the phyllosphere // *Nat Rev Microbiol.* – 2012. – 10(12). – P. 828-840. doi: 10.1038/nrmicro2910.

### References:

1. Zaharov IA, Kozhin SA, Kozhina TN, Fedorova IV. *Experimental Technics in Genetics of Saccharomyces Yeast.* Nauka, Leningrad, 1984. 144.

2. Krasavin EA. Factors Determinating the Shape of Survival Curves of *Escherichia coli* Cells Irradiated by Ionizing Radiation with Different LET. Peculiarities of Genom Organization and the Shape of Survival. Joint Institute for Nuclear Research, 1984. 12.

3. Milko ES, Kotova IB, Netrusov AB. The process of bacterial dissociation. Textbook. MAX Press, Moscow, 2007. 68 P.



4. Dussault D, Caillet S, Le Tien C, Lacroix M./ Carotenoids' influence on radiotolerance of *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen. Lett. Appl. Microbiol. 2008;47:208-213. Rastogi G, Coaker GL, Leveau JH. New insights into the structure and function of phyllosphere microbiota through high-throughput molecular approaches. FEMS Microbiol Lett. 2013;348(1):1–10. doi: 10.1111/1574-6968.12225.
5. Egorova AS, Gessler NN, Ryazanova LP, Kulakovskaya TV, Belozerskaya TA. Stress Resistance Mechanisms in the Indicator Fungi from Highly Radioactive Chernobyl Zone Sites. Mikrobiologiya. 2015;84(2):184-191. Vorholt J.A. Microbial life in the phyllosphere. Nat Rev Microbiol. 2012;10(12):828-840. doi: 10.1038/nrmicro2910.
6. Environmental remediation and restoration of contaminated nuclear and NORM sites. Edited by Leo van Velzen. London: Woodhead Publishing. 2015. 261.
7. Farrar K, Bryant D, Cope-Selby N. Understanding and engineering beneficial plant-microbe interactions: plant growth promotion in energy crops. Plant Biotechnol. J. 2014;12(9):1193-1206.
8. Hallooma AIA, Zelena P, Shevchenko J, Berezhna V, Shilina J, Gusha M, Molozhava O, Umina Iu, Shepelevych V, Voychuk S. Phytopathogenic activity of bacteria found in plants gathered in areas with radioactive contamination. In: Proceeding of the conference «The top actual researches in modern science», Dubai, Ajman, UAE. 2015:37-45.
9. Ibrahim M, Adrees M, Rashid U, Raza SH, Abbas F. Chapter 21 Phytoremediation of radioactive contaminated soils. In book: Soil Remediation and Plants, Publisher: Academic Press, Editors: Khalid Rehman, Hakeem Muhammad, Sabir Münir, Öztürk Ahmet.
10. Rastogi G, Coaker GL, Leveau JH. New insights into the structure and function of phyllosphere microbiota through high-throughput molecular approaches // FEMS Microbiol Lett. – 2013. – 348(1). – P. 1-10. doi: 10.1111/1574-6968.12225.
11. Shukla M, Chaturvedi R, Tamhane D, Vyas P, Archana G, Apte S, Bandekar J, Desai A. Multiple-stress tolerance of ionizing radiation-resistant bacterial isolates obtained from various habitats: correlation between stresses // Curr Microbiol. – 2007. – 54(2). – P.142-148.
12. Vasileva-Tonkova E, Romanovskaya V, Gladka G, Gouliamova D, Tomova I, Stoilova-Disheva M, Tashyrev O. Ecophysiological properties of cultivable heterotrophic bacteria and yeasts dominating in phytocenoses of Galindez Island, maritime Antarctica // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2014. –30. –P. 1387–1398.
13. Vorholt JA. Microbial life in the phyllosphere // Nat Rev Microbiol. – 2012. – 10(12). – P. 828-840. doi: 10.1038/nrmicro2910.

Стаття надійшла до редакції 07.02.2017 р.

