

DROBNOUSTROJE RADIOTOLERANCYJNE – CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH GATUNKÓW ORAZ ICH POTENCJALNE ZASTOSOWANIE

Dominik Maciej Matusiak^{1*}

¹ Zakład Mikrobiologii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Wpłynęło w sierpniu 2015 r.
Zaakceptowano w grudniu 2015 r.

1. Wprowadzenie. 1.1. Promieniowanie oraz jego wpływ na organizmy żywe. 1.2. Drobnoustroje radiotolerancyjne – definicja, teorie na temat pochodzenia, oporność na promieniowanie. 2. Charakterystyka wybranych organizmów radiotolerancyjnych. 2.1. Bakterie. 2.2. Archeony. 2.3. Grzyby mikroskopowe. 3. Podsumowanie

Radiotolerant microorganisms – characterization of selected species and their potential usage

Abstract: Ionizing radiation damages DNA, proteins and lipids in cells in a direct (10–20% DNA damage) and indirect manner (80–90%) – causing water radiolysis and a redox potential increase (oxido-reductive stress). For instance, hydrogen peroxide and ozone are generated. Hydroxyl radical (OH[•]) is the most reactive and harmful reactive oxygen species (ROS). Radiotolerant microorganisms are extremophilic microbiota, sustaining high doses of radiation in a vegetative state. One of the most resistant and extensively studied species is *Deinococcus radiodurans*. This bacterium can reconstitute its genome shattered to dozens of fragments (double strand breaks) as a result of the exposure to radiation or desiccation. Other examples include: bacteria: *Acinetobacter radioresistens*, *Rubrobacter radiotolerans*, *Kineococcus radiotolerans*, *Ralstonia* sp. and *Burkholderia* sp. (living in biofilm communities from spent fuel pools); archaea: *Thermococcus gammatolerans*; diverse microscopic, often melanized, presumably radiotropic fungi, e.g. *Cladosporium* spp., from the surrounding of the destroyed Chernobyl power plant. Many of such organisms can be found in desert areas as they are dehydration-tolerant. Radioresistant species can be potentially utilized for bioremediation of radioactive environment contamination and for nuclear waste management (e.g. bioprecipitation, biosorption, bioaccumulation of uranium or other radioisotopes). For example, diverse molds isolated from the Chernobyl region can be used for mycoremediation due to their ability to decompose contaminated organic matter, adsorb, converse into a soluble form and accumulate radionuclides (e.g. caesium 137).

1. Introduction. 1.1. Radiation and its effect on organisms. 1.2. Radiotolerant microorganism – definition, theories about their origin, radioresistance. 2. Description of selected radiotolerant species 2.1. Bacteria. 2.2. Archaea. 2.3. Microfungi. 3. Summary

Słowa kluczowe: *Deinococcus radiodurans*, drobnoustroje radiooporne / radiotolerancyjne

Key words: *Deinococcus radiodurans*, radioresistant / radiotolerant microorganisms

1. Wprowadzenie

1.1. Promieniowanie oraz jego wpływ na organizmy żywe

Promieniowanie można zdefiniować jako strumień cząstek lub fal elektromagnetycznych emitowanych przez ciało fizyczne. Jest formą przekazywania energii. Najbardziej szkodliwe dla organizmów jest promieniowanie jonizujące i UV (ultrafioletowe). Promieniowanie jonizujące powoduje jonizację materii poprzez wybite elektronów lub zjawisko Comptona. Wyróżniamy np. wysoce przenikliwe promieniowanie X (rtg – rentgenowskie) i γ oraz słabo przenikliwe promieniowanie α (strumień jąder helu) i β (strumień elektronów lub pozytonów) [13, 46].

Promieniowanie wykazuje właściwości mutagenne. Uszkadza DNA, białka i lipidy w komórkach na drodze bezpośredniego oddziaływania (teoria tarczy) oraz na drodze stresu oksydacyjnego – w tym poprzez radiolizę

wody. Bezpośredniemu oddziaływaniu przypisuje się zaledwie ok. 10–20% uszkodzeń DNA [7, 12, 18, 46, 54]. Za stres oksydacyjny – nadmierny wzrost potencjału oksydoredukcyjnego – odpowiadają (wolne) rodniki i reaktywne formy tlenu (ROS – *reactive oxygen species*). Wolne rodniki to silnie reaktywne atomy lub cząsteczki zawierające niesparowane elektrony. Natomiast do ROS, powstających m.in. na skutek radiolizy wody, zalicza się rodniki, jak np. anionradnik nadtlenu (O₂^{•-}), rodnik hydroksylowy (HO[•]; silnie reaktywny), również niebędące rodnikami nadtlenu (np. nadtlenek wodoru – H₂O₂), tlen singletowy (¹O₂) i ozon (O₃, tritlen).

Nadtlenek wodoru łatwo ulega rozpadowi na wodę oraz na silnie reaktywny tlen atomowy (*in statu nascendi* – w trakcie tworzenia). Ponadto z jonami Fe²⁺ w reakcji Fentona tworzy rodnik hydroksylowy: H₂O₂ + Fe²⁺ → OH[•] + OH⁻ + Fe³⁺. ROS są naturalnym produktem metabolizmu w komórkach, np. oddychania tlenowego [4, 12, 18, 38, 39, 55, 59].

* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii Ogólnej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, ul. Banacha 12/16, 90-231 Łódź; tel. 42 6354469; e-mail: matusiak@acer.biol.uni.lodz.pl

Ekspozycja organizmu na promieniowanie jonizujące skutkuje m.in. modyfikacją zasad azotowych oraz błędnym podstawianiem zasad w DNA, depurynacją DNA, pękaniem wiązań fosfodiesterowych w DNA (SSBs – *single-strand breaks* i DSBs – *double-strand breaks*, odpowiednio jedno- i dwuniciowe pęknięcia); ponadto: delecją (utrata) fragmentów kwasów nukleinowych, tworzeniem wiązań krzyżowych w DNA oraz między DNA a białkami [16, 33, 58]. Dwuniciowe pęknięcia DNA, z uwagi na brak matrycy do naprawy, są trudno-odwracalne i silnie letalne. Mogą powstać np. gdy wystąpią obok siebie, na przeciwległych niciach DNA, dwa SSBs i zajdzie proces wycięcia zasad (BER – *base excision repair*) [12, 20, 33, 37, 40, 49]. Za dawkę sterylizującą promieniowania jonizującego przyjmuje się 10–30 kGy (8 lub 9 Gy śmiertelne dla człowieka) [4, 6, 46]. Grej (Gy) jest jednostką dawki pochłoniętej w układzie SI równą 1 J/kg.

Efekt biologiczny oraz wrażliwość mikroorganizmu na radiację zależą m.in. od rodzaju promieniowania, jego natężenia, czasu ekspozycji, gatunku czy szczepu drobnoustroju, jego fazy wzrostu, stanu metabolicznego; także od podłoża hodowlanego, warunków środowiskowych (np. czy te warunki są optymalne dla organizmu). W fazie stacjonarnej wzrostu drobnoustroje są zwykle bardziej odporne na radiację – z wyjątkiem *Halobacterium* sp. [20, 33].

1.2. Drobnoustroje radiotolerancyjne – definicja, teorie na temat pochodzenia, oporność na promieniowanie

Drobnoustroje radiotolerancyjne można zdefiniować, jako organizmy prokariotyczne – niebędące w formie przetrwalnej (spoczynkowej) – zdolne do przetrwania wysokiej dawki promieniowania jonizującego,

w praktyce przyjętej, jako większej niż 1 kGy [50]. Definicja ta nie obejmuje grzybów, które są organizmami eukariotycznymi. W piśmiennictwie polskim rzadko stosuje się pojęcia „drobnoustrój radiooporny” lub „radiofilny”. Cechę radiooporności przypisano wielu poznanym mikroorganizmom, które zaklasyfikowano do domen *Bacteria* (bakterie), *Archaea* (archeony) i *Eukarya* (eukarionty). Przykładowo dawka D10 promieniowania, czyli redukująca o 90% liczbę żywych komórek (LD_{90} – *lethal dose 90%*) dla średniowrażliwych szczepów *Escherichia coli* wynosi 0,25 kGy [33]. Generalnie uważa się, że bakterie Gram-dodatnie (np. *Bacillus* sp.) są mniej wrażliwe na radiację niż Gram-ujemne; także spory (przetrwalniki) bakterii wykazują wysoką oporność (dawka D10 3–4 kGy) [9]. Porównywanie dostępnych danych odnośnie do radiooporności drobnoustrojów stwarza problemy, ze względu na odmienne warunki przeprowadzania doświadczeń przez różnych badaczy, np. użyty typ promieniowania, źródło, natężenie, czas ekspozycji, medium hodowlane, gęstość hodowli, a także ze względu na posługiwanie się różnymi jednostkami pomiaru. Organizmy radiooporne można zaliczyć do ekstremofili – tolerujących lub wymagających skrajnych warunków środowiskowych do życia. Przykładami poliekstremofili są *Deinococcus radiodurans* (oporny na promieniowanie i wysuszenie), *Thermococcus gammatolerans* (oporny na radiację i wysoką temperaturę), *Chroococcidiopsis* spp. (oporny na promieniowanie, dehydratację, niską temperaturę i rozmrażanie) [5, 8, 30, 54]. Drobnoustroje żyjące w skrajnych warunkach środowiskowych, w tym organizmy tolerancyjne względem promieniowania, znajdują się w polu zainteresowań zwolenników teorii panspermii, która głosi, że życie na Ziemi ma pochodzenie kosmiczne [5, 42]. Interdyscyplinarną nauką zajmującą się wpływem promieniowania na organizmy jest radiobiologia.

Zastosowane skróty:

BER	– <i>base excision repair</i> , naprawa przez wycinanie zasad,	NER	– <i>nucleotide excision repair</i> , naprawa przez wycinanie nukleotydów,
BIR	– <i>break-induced replication</i> , replikacja indukowana pęknięciem,	NHEJ	– <i>non-homologous end joining</i> , łączenie niehomologicznych końców,
DPS	– <i>DNA-binding protein from starved cells</i> , białko wiążące DNA pochodzące od głodzonych komórek,	LD_{90}	– <i>lethal dose 90%</i> , dawka śmiertelna 90%,
DSBs	– <i>double-strand breaks</i> , dwuniciowe pęknięcia,	phoK	– <i>alkaline phosphatase</i> , fosfataza alkaliczna,
DSM	– <i>Deutsche Sammlung von Mikroorganismen</i> , niemiecka kolekcja mikroorganizmów,	phoN	– <i>non-specific acid phosphatase</i> , niespecyficzna fosfataza kwaśna,
ECM	– <i>extracellular matrix</i> , macierz zewnątrzkomórkowa,	pz	– para zasad,
EPS	– <i>extracellular polymeric substances</i> , zewnątrzkomórkowe polimery,	ROS	– <i>reactive oxygen species</i> , reaktywne formy tlenu,
ESDSA	– <i>extended synthesis-dependent strand annealing</i> , łączenie nici zależne od rozszerzonej syntezy,	R, rtg	– rentgen,
HGT	– <i>horizontal gene transfer</i> , horyzontalny transfer genów,	SOD	– <i>superoxide dismutase</i> , dysmutaza ponadtlenkowa,
IS	– <i>insertion sequence</i> , sekwencja insercyjna,	SSA	– <i>single-strand annealing</i> , jednoniciowe parowanie,
ISS	– <i>international space station</i> , międzynarodowa stacja kosmiczna,	SSBs	– <i>single-strand breaks</i> , jednoniciowe pęknięcia,
		ssDNA	– <i>single-strand DNA</i> , jednoniciowe DNA,
		TCA	– <i>tricarboxylic acid cycle</i> , cykl kwasów trikarboksylowych, cykl Krebsa,
		UV	– <i>ultraviolet</i> , ultrafiolet,
		VBNC	– <i>viable but not culturable</i> , żywe ale nie hodowlalne.

Oporność na promieniowanie może być cechą typową dla danego gatunku (np. jak w przypadku *D. radiodurans*) lub może dotyczyć niektórych szczepów w obrębie gatunku. Organizmy w środowisku pochłaniają rocznie zazwyczaj niedużą dawkę promieniowania równą ok. 2,4 mSv/rok [4]. Ekspozycja na 2–10 Sv w krótkim czasie u człowieka powoduje poważną chorobę lub śmierć [64]. Radiacja może mieć źródło naturalne – kosmiczne (korpuskularne i elektromagnetyczne), także jest emitowana od źródeł promieniotwórczych, np. uranu. Promieniowanie może mieć też pochodzenie antropogeniczne, np. od broni i energetyki jądrowej, przemysłu, odpadów medycznych. Przypuszcza się, że fenotyp z cechą oporności na promieniowanie mógł pojawić się w ewolucji pośrednio, jako efekt uboczny mechanizmów komórkowych chroniących przed innymi typami stresu środowiskowego. Przykładowo odwodnienie komórki, podobnie jak promieniowanie, powoduje dwuniciowe pęknięcia w kwasie deoksyrybonukleinowym. Bakteria *D. radiodurans* cechuje się bardzo wysoką opornością na promieniowanie jak i na dehydratację (występuje np. w glebach pustynnych). Szczepy tego gatunku wrażliwe na desykcję tracą również oporność na radiację [19, 23, 28, 33, 37, 42, 44, 47, 50, 60]. Podobnie cyjanobakterie *Chroococcidiopsis* spp. tolerują wysokie dawki promieniowania i dehydratację [5, 8]. Jednakże teoria łącząca oporność na radiację z małą wrażliwością na odwodnienie poddawana jest w wątpliwość przez część badaczy, jako niedostatecznie potwierdzona. Przykładowo zaobserwowano, że tolerancja na radiację u badanych termofilnych archeonów, była zbliżona u szczepów opornych jak i wrażliwych na desykcję [50]. Podobnie jak dehydratacja, wysoka temperatura uszkadza DNA. Powoduje hydrolityczną depurynację DNA, deaminację aminokwasów, SSBs i DSBs. Niektóre hipertermofile jak np. *T. gammatolerans*, cechują się opornością na promieniowanie. Przypuszcza się więc, że tolerancja na radiację może być efektem ubocznym adaptacji do wysokich temperatur, aczkolwiek ta teza również jest kwestionowana [12, 20, 58]. Rośliny w odpowiedzi na infekcje grzybicze wytwarzają ROS, które działają przeciwdrobnoustrojowo [29]. Wywiera to prawdopodobnie presję selekcyjną, faworyzującą szczepy lepiej znoszące stres oksydacyjny i pośrednio bardziej odporne na promieniowanie. Przypuszczalnie fenotyp z cechą oporności na promieniowanie powstał na drodze ewolucji niezależnie u różnych grup drobnoustrojów (zjawisko konwergencji), ale niewykluczone również, że pochodzi od wspólnych przodków z dawnych epok geologicznych [13, 50]. Bakterie nabywają również geny oporności na czynniki stresu środowiskowego na drodze horyzontalnego transferu genów (HGT – *horyzontal gene transfer*). Przykładowo *D. radiodurans* łatwo ulega naturalnej (w środowisku) jak i sztucznej (w laboratorium)

transformacji genetycznej oraz charakteryzuje się chimerycznym genomem, tj. zawierającym wiele sekwencji pochodzących od innych organizmów (np. kodujących oporność na desykcję) [37]. Ekspozycja organizmu na promieniowanie może indukować tolerancję u drobnoustrojów oraz selekcjonować szczepy radiooporne – często wytwarzające barwniki o właściwościach antyoksydacyjnych, np. melaninę. Taka sytuacja miała miejsce np. w regionie uszkodzonej elektrowni jądrowej w Czarnobylu na Ukrainie (po awarii w 1986 r.) [7]. Metodami laboratoryjnymi udało się wyselekcjonować szczepy *E. coli* o nadzwyczajnie dużej oporności na promieniowanie. Takie szczepy uzyskano na drodze wielokrotnych ekspozycji na wzrastające dawki promieniowania jonizującego [12, 42].

Rozróżnia się cztery podstawowe strategie przetrwania drobnoustrojów w odpowiedzi na niekorzystne czynniki środowiskowe: 1) działania mające na celu kompensowanie szkodliwego wpływu środowiska na komórkę – np. modyfikacja metabolizmu, wykorzystywanie alternatywnych szlaków metabolicznych, 2) wytwarzanie form przetrwalnikowych (egzo- i endospor), 3) działania mające na celu ochronę komórek przed stresem środowiskowym – np. formowanie otoczek czy biofilmu, 4) naprawa powstałych uszkodzeń w komórce – np. naprawa DNA, hydroliza zdegradowanych białek [28].

U każdego mikroorganizmu występuje, co najmniej kilka podstawowych mechanizmów, środków zaradczych, chroniących komórkę przed stresem oksydacyjnym, przed uszkodzeniem DNA i białek oraz usuwających już powstałe defekty w DNA czy eliminujące uszkodzone białka. Są to np.: aktywacja białek szoku na dany czynnik stresogenny (w tym odpowiedź SOS u prokariotów na poważne uszkodzenie DNA – jak powstanie ssDNA), katalaza (oksydoreduktaza rozkładająca nadtlenek wodoru: $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$), peroksydaza (oksydoreduktaza rozkładająca nadtlenek wodoru jednocześnie utleniając inny substrat), dysmutaza ponadtlenkowa (SOD – *superoxide dismutase*, unieczynniana anionem ponadtlenkowym: $2 \text{O}_2^{\cdot-} + 2 \text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$); ponadto: wycinanie uszkodzonych zasad w DNA (BER), wycinanie uszkodzonych nukleotydów (NER – *nucleotide excision repair*); również: naprawa rekombinacyjna, łączenie niehomologicznych zakończeń w DNA (NHEJ – *non-homologous end joining*). Rekombinacja homologiczna oraz NHEJ biorą udział w usuwaniu DSBs u *Prokaryota* i *Eukaryota*. Pierwszy mechanizm wymaga dwóch kopii DNA do naprawy, jednakże jest mniej podatny na błędy niż NHEJ [12, 16, 23, 25, 37, 38, 46, 51, 60, 65]. Większość gatunków drobnoustrojów (prokariotycznych i eukariotycznych) jest w stanie naprawić najwyżej kilka, kilkanaście DSBs DNA. Dla porównania *D. radiodurans* przywraca integralność DNA, w którym miało miejsce

ok. 200 lub wg innych źródeł ok. 100 dwuniciowych pęknięć DNA na chromosom (i jeszcze więcej SSBs) [12, 37, 40, 49]. Przed wolnymi rodnikami chronią komórki także takie przeciwutleniacze, jak np. barwniki karotenoidowe, melanina, flawonoidy, kwas askorbinowy (witamina C), tokoferole (witamina E), retinoidy (witamina A). Wydają się być zgodne z powyższymi obserwacjami, że wiele grzybów wyizolowanych z okolic uszkodzonej elektrowni w Czarnobylu wytwarza melaninę (np. *Cladosporium sphaerospermum*), a *D. radiodurans* produkuje czerwony barwnik karotenoidowy. Ponadto zarówno w przypadku grzybów jak i *D. radiodurans* szczepy bezbarwne są bardziej wrażliwe na promieniowanie [7, 15, 16, 38, 54, 55]. Przypuszcza się, że małe stężenie jonów żelaza, a wysokie jonów manganu, chroni komórkę przed stresem oksydacyjnym. Mn^{2+} w kompleksach z różnymi związkami inaktywuje różne typy ROS. Często drobnoustroje radiotolerancyjne mają w komórkach wyższy stosunek stężeń Mn^{2+} do Fe^{2+} , w porównaniu z gatunkami wrażliwymi na radiację. Wyjątkiem są sztucznie wyselekcjonowane szczepy *E. coli* odporne na promieniowanie, u których wspomniany stosunek stężeń jonów przyjmuje przeciętne wartości. *D. radiodurans* przy ograniczonym stężeniu manganu w medium hodowlanym wykazuje obniżoną tolerancję na promieniowanie. *Pyrococcus furiosus* po ekspozycji na radiację intensyfikuje ekspresję ferrytynowego białka DPS-podobnego (DNA-binding protein from starved cells). Białko to chelatuje (wiąże) jony żelaza, aby ograniczyć powstawanie rodnika hydroksylowego w reakcji Fentona [3, 12, 13, 18, 21, 29, 38, 41, 55]. Nie tylko uszkodzenie DNA powoduje poważne skutki dla komórki. Ważne znaczenie ma również uszkodzenie białek, odpowiedzialnych m.in. za replikację kwasu deoksyrybonukleinowego i jego naprawę, transkrypcję, translację oraz inne procesy metaboliczne komórki [18, 31].

2. Opis wybranych organizmów radiotolerancyjnych

2.1. Bakterie

Bakterie z rodzaju *Deinococcus* to glebowe ziarniaki lub pałeczki, zwykle barwiące się Gram-dodatnio (jednakże ściana komórkowa jest o atypowej budowie). Optymalna temperatura do wzrostu poszczególnych gatunków mieści się w zakresie 9–50°C [1]. Wiele bakterii z rodzaju *Deinococcus* charakteryzuje się wysoką opornością na promieniowanie jonizujące. Przykładowo są to gatunki: *D. radiodurans*, *D. radiophilus*, *D. desertii*, *D. grandis*, *D. geothermalis*, *D. murrayi*, *D. proteolyticus* [17, 56, 59]; część występuje w glebach pustynnych i jest oporna na dehydratację, np.: *D. desertii*, *D. gobiensis*, *D. xinjiangensis*, *D. radiodurans* [28, 56]. *D. geother-*

malis i *D. murrayi* to gatunki termofilne [13, 17, 37, 41]. Gatunki wrażliwe na promieniowanie to np.: *D. altitudinis*, *D. claudonis*, *D. radiomollis* [12].

Deinococcus radiodurans to jedna z najbardziej opornych (z poznanych) na promieniowanie bakterii; również najlepiej zbadana pod względem radiooporności. Drobnoustrój ten przeżywa ekspozycję na dawkę promieniowania 10–15 kGy [2]; według niektórych źródeł nawet 25 kGy – podobnie jak *Rubrobacter radiotolerans* [4]. Do dawki 5 kGy nie obserwuje się u większości komórek w populacji utraty żywotności [13]. Dawkę D10 (LD_{90}) promieniowania jonizującego oszacowano na 10 kGy [33]. *D. radiodurans* to kosmopolityczna – występuje np. w glebie, mezofilna, nieprzetrawialna, nieruchliwa, niepatogenna oraz bezwzględnie tlenowa bakteria; wytwarza czerwony barwnik karotenoidowy – deinoksantynę. Po raz pierwszy została wyizolowana w 1956 r. w USA z puszkowanego mięsa poddanego sterylizacji radiacyjnej. *D. radiodurans* cechuje się również opornością na wysuszenie, stres oksydacyjny i chemiczne czynniki mutagenne. Oporność na radiację być może jest pośrednim skutkiem tolerancji na odwodnienie, które również powoduje uszkodzenia DNA. Komórki są morfologii kulistej, ułożone w tetradę. Sześciowarstwowa ściana komórkowa przypomina budowę bakterii Gram-ujemnych. W błonie komórkowej obecne są nietypowe względem innych bakterii fosfolipidy oraz kwasy tłuszczowe. Bakteria ta wytwarza otoczkę obejmującą grupę kilku komórek [13, 17, 37, 39, 40, 41, 47, 49, 57, 60].

Toroidalny (w kształcie pierścienia), silnie skondensowany oraz podatny na manipulacje genetyczne genom *D. radiodurans* (szczep R1) – obejmuje dwa kolisty chromosomy (2,65 Mbp i 0,412 Mbp), kolisty megaplazmid (0,177 Mbp) oraz kolisty plazmid (46 kbp). Prawdopodobnie wiele genów, kodujących np. czynniki oporności na stres środowiskowy – w tym na dehydratację, bakteria ta nabyła na drodze horyzontalnego transferu genów od różnych grup organizmów – np. archeonów, bakterii, roślin. W genomie występuje dużo sekwencji insercyjnych (IS – insertion sequence). Procentowa zawartość par GC w DNA wynosi 66,6% [12, 13, 23, 37, 40, 47, 49, 50, 57, 60].

Mechanizmy oporności *D. radiodurans* na promieniowanie nie są jeszcze w pełni poznane. U bakterii tej występują: silnie skondensowany genom w od 4 (faza stacjonarna) do 10 (faza logarytmicznego wzrostu) kopiach (być może zapobiega to dyfuzji uszkodzonych fragmentów DNA oraz utrudnia dostęp czynników uszkadzających do DNA), wysoki współczynnik Fe^{2+}/Mn^{2+} , białko DPS-podobne (wiąże Fe^{2+} oraz odgrywa rolę w kondensacji DNA); ponadto: złożona, wielowarstwowa ściana komórkowa (prawdopodobnie właściwości ochronne), katalaza, SOD, peroksydazy, deinoksantyna (przeciwutleniacz), liczne glikozydazy

i hydrolazy Nudix (usuwanie oksydacyjne uszkodzenia DNA), odpowiedź SOS. Również rolę w oporności na promieniowanie mogą odgrywać: liczne proteazy (rozkładające uszkodzone białka), szybka resynteza białek chaperonowych (opiekuńczych) oraz białek cyklu TCA (*tricarboxylic acid cycle*) po napromieniowaniu, mechanizm usuwania uszkodzonych nukleotydów z komórki (zapobiega ponownemu włączeniu do DNA). Obecność wielu kopii genomu niekoniecznie nadaje oporność na promieniowanie. Przykładowo u *E. coli* oraz *Azotobacter vinelandii* może występować odpowiednio 5–18 oraz ponad 100 kopii genomu w komórce, co nie czyni tych bakterii tolerancyjnymi na radiację. Jednakże mechanizm rekombinacji homologicznej do naprawy DSBs wymaga więcej niż jednej kopii genomu. Odnosnie ochronnego działania barwników w komórce – zaobserwowano, że deinoxantyna *D. radiodurans* wydajniej inaktywuje ROS (rodnik hydroksylowy, tlen singletowy, H_2O_2) niż likopen i β -karoten – karoteny czy zeaksantyna i luteina – ksantofile. Bezbarwne szczepy *D. radiodurans* cechują się większą wrażliwością na promieniowanie. Zmniejszenie ilości manganu w pożywce zwiększa ok. 1000-krotnie wrażliwość *D. radiodurans* na promieniowanie. Jony manganu być może ułatwiają kondensację DNA, neutralizując ujemnie naładowane grupy fosforanowe w nukleotydach, co pozwala na zbliżenie helis. Znaczenie systemu SOS nie jest do końca poznane. Nie wykryto polimeraz SOS podatnych na błędy. U *D. radiodurans* nie zaobserwowano nowych, nieznanych wcześniej nauce mechanizmów naprawy DNA. Omawiana bakteria prawdopodobnie dysponuje podobnymi, lecz może o wyższej skuteczności, mechanizmami naprawy kwasu deoksyrybonukleinowego, które występują u innych mikroorganizmów. *D. radiodurans* jest w stanie w ciągu kilku, kilkunastu godzin przywrócić (bez utrwalenia mutacji) integralność genomu, w którym powstało ok. 200 lub 100 dwuniciowych pęknięć DNA na chromosom i jeszcze więcej jedno-niciowych pęknięć. Większość drobnoustrójów jest w stanie naprawić najwyżej kilka-kilkanaście DSBs. Główną przyczyną dużej oporności *D. radiodurans* na radiację zdaje się być nie tyle zapobieganie degradacji DNA, ale szybka i skuteczna zdolność usuwania poważnych uszkodzeń w genomie. Zaproponowano kilka mechanizmów, które mogą przywracać integralność genomu *D. radiodurans* po ekspozycji na radiację i wystąpieniu DSBs. Są to:

- rekombinacja homologiczna: wg modelu Hollidaya, ESDSA (*extended synthesis-dependent strand annealing*), SSA (*single-strand annealing*, może prowadzić do mutacji), BIR (*break-induced replication*), *copy choice*,
- NHEJ (może prowadzić do mutacji).

Zdaniem badaczy najbardziej prawdopodobny jest mechanizm ESDSA. Istotnym białkiem biorącym udział

w naprawie DNA – rekombinacji homologicznej, jest RecA. Mutanty *D. radiodurans* pozbawione tego białka cechują się bardzo dużą wrażliwością na promieniowanie. Poza ESDSA rolę w naprawie chromosomu bakteriowego (genoforu) mogą odgrywać inne mechanizmy, np. BIR, NHEJ. Zaobserwowano, że RecA-zależna naprawa genomu dominuje u omawianej bakterii dopiero kilka godzin po ekspozycji na promieniowanie [13, 14, 18, 23, 31, 37, 40, 47, 49, 51, 54–56, 60].

D. radiodurans może być wykorzystany np. do bioremediacji (usuwania) odpadów radioaktywnych z wód. Zrekombinowane genetycznie szczepy omawianej bakterii, wyposażone w *phoK* (fosfataza alkaliczna) lub *phoN* (niespecyficzna fosfataza kwaśna), precipitują za pomocą jonów fosforanowych uranu (adsorbowany również na powierzchni komórek). Oporność *D. radiodurans* na promieniowanie nie oznacza pełnej tolerancji względem radioizotopów. Istotna jest również toksyczność chemiczna metali ciężkich, na które wrażliwy jest omawiany drobnoustrój (słaba tolerancja względem $[UO_2]^{2+}$). Inna, potencjalna możliwość zastosowania *D. radiodurans* obejmuje kontrolę skuteczności sterylizacji radiacyjnej – np. preparatów medycznych, odpadów biologicznych [2, 34, 35, 52].

Rubrobacter radiotolerans to Gram-dodatni, nieurzęsiony, nieprzetrwalnikujący, tlenowy, halotolerancyjny, umiarkowanie termofilny gatunek promieniowca (*Actinobacteria*). Starsza nazwa tej bakterii to *Arthrobacter radiotolerans*. Komórki przyjmują kształt pleomorficznych pałeczek. Kolonie na podłożu stałym cechują się różową barwą ze względu na karotenoidowy barwnik (bakterioruberyna). *R. radiotolerans* charakteryzuje się bardzo dużą opornością na radiację (zbliżony poziom do *D. radiodurans*). Mechanizmy oporności na promieniowanie są słabo poznane. Ochronnie działają m.in. karotenoidowy barwnik, SOD, katalaza. U gatunku tego występuje kolisty chromosom (2,88 Mbp) oraz trzy kolisty plazmidy (190,9 kbp, 149,8 kbp, 51 kbp). Procentowa zawartość par GC w DNA wynosi 66,91% – szczep RSPS-4 [21, 42, 53]. Innym radiotolerancyjnym gatunkiem z rodzaju *Rubrobacter* jest *R. xylanophilus* [42, 50]

Chroococcidopsis spp. są to szeroko-rozpowszechnione (kosmopolityczne), jednokomórkowe, ekstremofilne, fotosyntetyzujące sinice (*Cyanobacteria*). Występują np. na gorących i zimnych pustyniach w tym na pustyni Atakama w Chile, w Suchych Dolinach McMurdo na Antarktydzie, na pustyni Negew w Izraelu, na pustynnych obszarach Australii czy Półwyspu Synaj w Egipcie. Ten drobnoustrój izolowano również ze słonych i słodkich wód (też gorące źródła), skał, porostów (jako symbiont). Komórki są zazwyczaj o morfologii ziarniaków, koloru ciemno niebiesko-zielonego. *Chroococcidopsis* spp. nie tworzą heterocyst. Są w stanie wiązać azot cząsteczkowy w warunkach beztlenowych. Podobnie jak *D. radiodurans* tolerują

wysuszenie i ekspozycję na promieniowanie jonizujące – przeżywają dawkę 15 kGy. Jednakże mechanizmy oporności na radiację są słabo poznane. Sinice te wytwarzają grube, wielowarstwowe otoczki bogate w polisacharydy. Otoczkom tym przypisywana jest rola ochronna przed odwodnieniem. *Chroococcidopsis* spp. tworzą formy przetrwalne. Są w stanie przeżyć wysokie i niskie temperatury, skrajne wartości pH, duże zasolenie. Produkują neurotoksyczny aminokwas β -N-metylo-amino-L-alaninę oraz hepatotoksyczną mikrocystinę [5, 8, 22, 36].

Methylobacterium, w tym *M. radiotolerans*, to Gram-ujemne (lecz barwią się Gram-zmiennie), urzęsione monotrychalnie, ściśle tlenowe pałeczki. Występują np. w glebie, kurzu, wodzie, ściekach, na powierzchni liści, powietrzu; także w środowisku szpitalnym oraz jako zanieczyszczenie farmaceutyków. Są fakultatywnie metylotroficzne, tj. wykorzystują organiczne związki jednowęglowe jako źródła węgla i energii. Charakteryzują się powolnym wzrostem; optymalna temperatura do wzrostu to 25–30°C. Bakterie te wytwarzają różowy, karotenoidowy barwnik, ureazę oraz katalazę. Jako patogeny oportunistyczne są izolowane np. z przypadków bakteriemii związanej z cewnikowaniem dróg moczowych, infekcji układu nerwowego, skóry. Cechują się często opornością na różne antybiotyki. *M. radiotolerans* jest 10–40 razy bardziej odporny na radiację, niż przeciętne bakterie Gram-ujemne, jednakże dostępne informacje na ten temat są skąpe. Oporność na promieniowanie tej bakterii jest zbliżona do *D. radiodurans*. *M. radiotolerans* przeżywa ekspozycję na promieniowanie równą dawce 25 kGy. Postulowane jest zastosowanie tej bakterii do kontroli sterylizacji radiacyjnej żywności [11, 13, 26].

Kocuria jest rodzajem Gram-dodatnich, tlenowych, nieurzęsionych i nieprzetrwalnikujących ziarniaków, należących do typu *Actinobacteria* (promieniowce). Psychrotolerancyjny szczep *Kocuria* ASB 107, wyizolowany z naturalnie promieniotwórczego źródła Ab-e-Siah w Iraku, charakteryzuje się 40 razy większą opornością na promieniowanie jonizujące w porównaniu do pałeczki okrężnicy. W wodach źródła Ab-e-Siah zaobserwowano występowanie m.in. izotopów radu 226 oraz produktów jego rozpadu. Szczep *Kocuria* ASB 107 jest blisko spokrewniony z *Kocuria rosea* DSM 20447T (99,7% podobieństwa sekwencji 16 S rDNA). Rośnie w przedziale temperatur 0–37°C (optimum 29°C \pm 1), w stężeniu chlorku sodu 0–10% (jest halotolerancyjny). Komórki układają się w dwójki, tetrady albo sześciennie pakiety. Bakteria ta wytwarza katalazę oraz pomarańczowy barwnik. Mechanizm oporności tego drobnoustroju na promieniowanie nie jest poznany. Bakterię tą potencjalnie można by wykorzystać do bioremediacji odpadów radioaktywnych [4].

Serratia marcescens, zwana inaczej pałeczką krwawą, to fakultatywnie beztlenowa, urzęsiona, nieprzetrwalnikująca, Gram-ujemna bakteria; zaliczana jest do rodziny *Enterobacteriaceae* i wchodzi w skład flory bakteryjnej układu pokarmowego człowieka. Komórki tej bakterii wytwarzają czerwony barwnik – prodigiozynę. Drobnoustrój ten jest oportunistycznie chorobotwórczy, powoduje m.in. zakażenia szpitalne. Dużą opornością na radiację charakteryzuje się szczep *S. marcescens* ZF03 wyizolowany z gorących źródeł w Ramsar w Iranie. Region miasta Ramsar jest jednym z miejsc na Ziemi o najwyższym poziomie naturalnego promieniowania – z uwagi na złoża uranu oraz toru. Ze złoż tych, na drodze przemian izotopowych, powstają silnie karcynogenne izotopy radu 226 (ok. 10⁶ razy bardziej radioaktywny niż uran) oraz ²²²Ra. W odpowiedzi na ekspozycję na promieniowanie u tej bakterii dochodzi do różnych zmian metabolicznych. Na przykład zwiększonej ekspresji podlegają białka odpowiedzi na stres, białka chaperonowe (stabilizujące inne białka), proteiny naprawiające i chroniące DNA. Szczegółowe mechanizmy oporności tego drobnoustroju na promieniowanie wymagają poznania. Szczep *S. marcescens* ZF03 charakteryzuje się zdolnością do bioadsorpcji izotopów ²²⁶Ra, przez co potencjalnie może być wykorzystywany do bioremediacji wód skażonych promieniotwórczo [61].

Acinetobacter są to szeroko rozpowszechnione, Gram-ujemne, nieurzęsione, nieprzetrwalnikujące, krótkie, pękate pałeczko-ziarniaki. Charakteryzują się małymi wymaganiami odżywczymi. Są bezwzględnie tlenowe, jednakże w komórce nie występuje oksydaza cytochromowa. Powodują oportunistyczne zakażenia szpitalne, w tym np. ran pooperacyjnych, układu nerwowego. Wytwarzają lotne substancje o nieprzyjemnym zapachu. Ich kolonie są bezbarwne i nie zawieszają się w wodzie ze względu na obecność na komórce silnie adhezyjnych fimbrii. Jak wiele organizmów tlenowych wytwarzają katalazę. *A. radioresistens* zaliczany jest do umiarkowanie radiotolerancyjnych drobnoustrojów, aczkolwiek informacje dostępne na temat tej bakterii są skąpe [13, 45, 50].

Kineococcus radiotolerans jest nowo opisaną (2002), Gram-dodatnią, tlenową (lecz w komórce nie występuje oksydaza cytochromowa), urzęsioną polarnie bakterią, oporną na promieniowanie i dehydratację. Zaliczana jest do typu *Actinobacteria* (promieniowce). Komórki mają morfologię ziarniaków. Ich średnica wynosi 1–1,5 μ m. W bogatym podłożu hodowlanym tworzą kubiczne pakiety, otoczone ECM (*extracellular matrix*). Gatunek ten wykazuje dimorficzny cykl życiowy; w fazie stacjonarnej wzrostu wytwarza ruchliwe zoospory. *K. radiotolerans* syntetyzuje pomarańczowy barwnik – prawdopodobnie karotenoidowy. Na podłożu stałym tworzy okrągłe kolonie o szorstkich brzegach. Rośnie w temperaturze 11–41°C i toleruje

stężenie chlorku sodu do 5% (jest halotolerancyjny). Rośnie również w warunkach wysokiego stężenia metali i kationów alkalicznych. Bakteria ta przeżywa dawkę promieniowania 20 kGy. Genom *K. radiotolerans* obejmuje liniowy chromosom (4,76 Mbp), liniowy plazmid (0,18 Mbp) oraz kolisty plazmid (12,92 kbp). Zawartość par GC w DNA wynosi 74,2%. Mechanizmy oporności na promieniowanie i inne czynniki stresu środowiskowego tej bakterii są mało poznane. Wiadomo, że w komórce występuje wyższe stężenie manganu w stosunku do stężenia żelaza. Takie zjawisko obserwuje się również u innych mikroorganizmów radiotolerancyjnych. W genomie omawianej bakterii występuje dużo kopii genów kodujących enzymy chroniące przed ROS (np. katalazę, peroksydazy) oraz kodujących system naprawy NER. W genomie prawdopodobnie nie występuje typowy mechanizmu naprawy źle sparowanych zasad w DNA. Przepuszczalnie rekompensuje to obecność polimerazy DNA o zwiększonej wierności replikacji DNA i zdolności do naprawy własnych błędów. Szczep SRS30216^T tego gatunku wyizolowano z wysoce radioaktywnych odpadów w Savannah River Site w USA (Południowa Karolina). Jest to obszar skażony radioaktywnie na skutek działalności człowieka, związanej z produkcją broni jądrowej. Sugeruje się, że *K. radiotolerans* mógłby być potencjalnie wykorzystany do bioremediacji odpadów nuklearnych [3, 6, 43].

Trupera radiovictrix jest nowo opisaną (2005), Gram-nieokreśloną, umiarkowanie termofilną (optimalna temperatura do wzrostu wynosi 50°C), nieruchliwą, nieprzetrwalniczącą bakterią tlenową, wyizolowaną z gorących źródeł na wyspie São Miguel (Archipelag Azorów). Nie rośnie w temperaturze 20°C ani 60°C. Sklasyfikowana została do typu *Deinococcus-Thermus*. Co dla omawianego typu niezwykle – bakteria ta fermentuje laktozę bez wytworzenia gazu. *T. radiovictrix* jest drobnoustrojem halotolerancyjnym (optimum 1% NaCl, maksimum 6%). Nie rośnie poniżej pH 6,5 ani powyżej pH 11,2; optymalne pH jest nieco alkaliczne – 7,5–9,5. Wody, z których pochodzą izolaty, miały pH obojętne i niskie zasolenie. W trójwarstwowej ścianie komórkowej tego drobnoustroju nie wykryto peptydoglikanu. Komórki mają kształt kulisty o średnicy 1,25–2 µm; układają się często w pary albo tetrad. Kolonie są barwy pomarańczowej lub czerwonej. *T. radiovictrix* jak wiele bakterii tlenowych wytwarza katalazę. Cechuje się bardzo dużą opornością na promieniowanie (60% komórek przeżywa 5 kGy). Zawartość par GC w DNA wynosi 67,6–67,8% [1]. Mechanizmy oporności na radiację tego drobnoustroju nie są jeszcze odkryte.

Hymenobacter xinjiangensis to gatunek nowo opisanej (2007), Gram-ujemnej, tlenowej, nieprzetrwalniczącej oraz nieruchliwej pałeczki wyizolowanej

z piasków Pustyni Xinjiang w Chinach. Komórki tej bakterii wytwarzają różowy barwnik; mają 0,7 µm średnicy oraz 1–1,5 µm długości. Jak wiele drobnoustrojów tlenowych bakterii ta wytwarza katalazę. *H. xinjiangensis* charakteryzuje się bardzo dużą opornością radiacyjną – przeżywa ekspozycję na promieniowanie równą dawce 9 kGy. Optymalna temperatura do wzrostu dla tej bakterii wynosi 28°C. Zawartość par GC w genomie wynosi 54%. Przyczyny dużej oporności tego gatunku na promieniowanie wymagają zbadania [27].

Jednym z istotnych źródeł wysoce radioaktywnych odpadów są elektrownie jądrowe. Zużyte paliwo przechowuje się wiele lat w dużych, wykonanych z wysokiej jakości stali, zbiornikach wypełnionych ultraczystą wodą, celem ostudzenia zgromadzonego materiału. Na ścianie takiego zbiornika w Hiszpanii zaobserwowano występowanie biofilmu, w którym dominowały bakterie Gram-ujemne – najczęściej z rodzaju *Ralstonia*, np. *R. pickettii*. Zaobserwowano również obecność bakterii sklasyfikowanych do następujących gatunków: Gram-ujemne: *Afipia* sp., *Bradyrhizobium* sp., *Burkholderia cepacia*, *Cellulomonas* sp., *Chryseobacterium* sp., *Methylobacterium* sp., *Pseudomonas saccharophila*, *Rhizobium* sp., *Sphingomonas* sp., *Stenotrophomonas maltophilia*, *Xylophilus* sp.; Gram-dodatnie: *Bacillus* sp., *Cordona terrae*, *Microbacterium* sp., *Nocardia seriolae*, *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saccharolyticus*, *Streptococcus* sp. Wyizolowano również grzyby np. *Aspergillus fumigatus*. Zidentyfikowane oraz hodowalne drobnoustroje stanowiły tylko ok. 1% mikroorganizmów występujących w tym środowisku (pozostałe VNBC – *viable but not culturable*). Biofilm na ścianach zbiornika absorbował występujące w wodzie radioizotopy (np. kobalt 60, cynk 65, chrom 51, cez 137), co potencjalnie może być wykorzystane do ich bioremediacji. Proces ten prawdopodobnie zachodził z udziałem EPS (*extracellular polymeric substances*) oraz ścian komórkowych. Drobnoustroje pokrywające ściany zbiorników powodują biokorozję powierzchni [9, 10, 48]. Inni badacze w podobnym zbiorniku zlokalizowanym we Francji również odnotowali występowanie biofilmu, z którego wyizolowano bakterie: Gram-ujemne: *Ralstonia* sp. oraz *Burkholderia* sp. (najwięcej), *Acinetobacter* sp., *Delftia* sp., *Pseudomonas* sp., Gram-dodatnie: *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Staphylococcus* sp. Badacze zaobserwowali występowanie autotrofizmu (samożywności) u większości *Ralstonia* sp. i *Burkholderia* sp., polegającego na wykorzystaniu energii z utleniania wodoru cząsteczkowego (H₂), powstającego podczas radiolizy wody. Akceptorem elektronów był tlen, a jako źródło węgla drobnoustroje wykorzystywały dwutlenek węgla. Zjawisko to zachodziło w nietypowych warunkach – przy dużym natlenieniu środowiska, w którym normalnie wódor cząsteczkowy nie występuje [24].

3.2. Archeony

Archaea (archeony), nazywane dawniej archeobakteriami, są to drobnoustroje prokariotyczne, wykazujące wspólne cechy zarówno z bakteriami jak i eukariontami [12]. Często występują w skrajnych środowiskach, jak np. w gorących, zasolonych czy głębokich wodach.

Thermococcus gammatolerans to bezwzględnie bez-tlenowy, hipertermofilny, polarnie urzęsiony archeon, który charakteryzuje się bardzo dużą opornością na promieniowanie jonizujące. Mikroorganizm ten jest szeroko rozpowszechniony w głębokich, zasolonych wodach; można go wyizolować z gorących kominów hydrotermalnych, gdzie występuje duże stężenie metali ciężkich i wysoki poziom naturalnej promieniotwórczości. Rośnie w temperaturze 55–95°C (optimum 88°C). *T. gammatolerans* przeżywa ekspozycję na promieniowanie o dawce równej 5 kGy. Komórki tego drobnoustroju mają średnicę 0,6–1,4 µm, układają się pojedynczo lub w pary. Genom obejmuje kolisty chromosom o wielkości 2,045 Mbp; stosunek par GC do AT wynosi 53,6%. W genomie występują dwa prowirusy jako jedyne ruchome elementy genetyczne. U tego drobnoustroju występuje typowy zestaw mechanizmów naprawy uszkodzeń DNA. Przyczyny wysokiej oporności *T. gammatolerans* na radiację nie są znane. Przypuszcza się, że oporność ta pośrednio wynika z ewolucyjnego przystosowania do życia w wysokich temperaturach, które – podobnie jak promieniowanie – uszkadzają DNA i białka [12, 30, 65].

Pyrococcus furiosus to hipertermofilny (optymalna temperatura do wzrostu wynosi 100°C), bez-tlenowy, urzęsiony lofotrychalnie archeon. Występuje w środowisku głębokich, oceanicznych kominów hydrotermalnych. Gatunek ten charakteryzuje się znaczną opornością na promieniowanie, być może związaną z adaptacją do życia w wysokich temperaturach; 75% komórek przeżywa ekspozycję na dawkę 2,5 kGy. Przyczyny tolerancji *P. furiosus* na promieniowanie wymagają poznania, jednakże przypuszcza się, że działanie ochronne wykazują: różne enzymy oksydoredukcyjne chroniące przed ROS, część wytwarzana konstytutywnie (np. reduktaza ponadtlenkowa, eliminująca H₂O₂ peroksyredoksyna i tioredoksyna), białko DPS-podobne chelatujące żelazo. Po ekspozycji na radiację zwiększonej ekspresji podlegają np. białko RadA (homolog RecA), odgrywające rolę w naprawie DNA oraz wspomniane DPS. Przypuszcza się, że istotnym mechanizmem naprawy DNA u *P. furiosus* jest rekombinacja homologiczna. Genom omawianego archeona obejmuje chromosom o wielkości ok. 2 Mbp. Nie wykryto w nim mechanizmu odpowiedzi SOS [20, 58]. *P. furiosus* – podobnie jak *D. radiodurans* – skutecznie naprawia DSBs [33].

Halobacterium spp. to mezofilne, obligatoryjnie tlenowe, halofilne oraz nieprzetrwalnikujące archeony.

Komórki barwią się Gram-ujemnie i co typowe dla *Archaea* – nie zawierają peptydoglikanu. Na zewnątrz komórek obecna jest ochronna warstwa S zbudowana z glikoprotein. Drobnoustrój ten wytwarza błonę purpurową, w skład której wchodzi bakteriorodopsyna. Związek ten przetwarza energię świetlną do chemicznej, która jest wykorzystywana przez drobnoustrój w procesach metabolicznych. Przykładowe gatunki rodzaju *Halobacterium* to *H. halobium*, *H. salinarum*, *H. trypanicum*. Szczep *Halobacterium* sp. NRC-1 charakteryzuje się opornością na dehydratację, promieniowanie jonizujące oraz na działanie ultrafioletu; do wzrostu wymaga zasolenia dziesięć razy wyższego niż w wodzie słonej (tj. 250 g/l). 80% lub wg innego źródła 85% komórek tego szczepu przeżywa ekspozycję na dawkę radiacji równą 2,5 kGy. Szczep ten jest dziesięć razy bardziej odporny na promieniowanie jonizujące niż *H. salinarum*. Ochronne działanie przed promieniowaniem przypisuje się: wysokiemu stężeniu chlorku potasu w komórce, dużemu stężeniu bromku sodu (jony bromu wiążą rodniki hydroksylowe), wysokiemu stosunkowi stężeń manganu do żelaza; ponadto: bakterioruberynie w błonie (czerwony karotenoid, antyoksydant), SOD, tioredoksynie (białko inaktywujące wolne rodniki). Uważa się, że chlorek potasu łagodzi efekty oksydacyjne wolnych rodników powstających w czasie radiolizy wody, gdyż jony chlorkowe reagują z rodnikami hydroksylowymi, generując dużo mniej reaktywne rodniki chlorkowe (Cl[•]). Protekcyjny wpływ produkowanych barwników potwierdza obserwacja, że mutanty *H. salinarum* nie wytwarzające pigmentów, cechują się większą wrażliwością na promieniowanie. Do innych cech omawianego mikroorganizmu należy zdolność naprawy dużej liczby DSBs na drodze rekombinacji homologicznej. Natomiast w genomie nie wykryto SOS-podobnego mechanizmu naprawy DNA. Komórki omawianego drobnoustroju w fazie stacjonarnej cechują się większą wrażliwością na promieniowanie niż w okresie logarytmicznego wzrostu – to jest nietypowe. Tłumaczy się to zjawisko tym, że być może w fazie intensywnego wzrostu wydajniej usuwane są reaktywne formy tlenu. Genom *Halobacterium* sp. NRC-1 obejmuje jeden chromosom o wielkości 2,57 Mbp, ponadto dwa megaplazmidy. Procentowa zawartość par GC wynosi 65,9%. Przyczyny ponadprzeciętnej oporności na promieniowanie omawianego szczepu wymagają odkrycia [12, 33, 46, 53].

3.3. Grzyby mikroskopowe

Głownia kukurydzy (*Ustilago maydis*) jest fitopatogenem roślinnym powodującym chorobę guzowatą kukurydzy – śnieć zbożową. Należy do typu *Basidiomycota* (podstawczaki). Charakteryzuje się wysoką

opornością na promieniowanie jonizujące, jednakże mechanizm tej oporności nie jest poznany. Jest to grzyb dimorficzny, rosnący saprofitycznie w postaci drożdżoidalnej; po infekcji tkanek roślinnych rośnie w postaci mycelialnej – strzępków grzybni. Genom tego pasożyta obejmuje ok. 20 Mpz (23 chromosomy). Około 70% genów nie zawiera sekwencji intronowych [29].

26 kwietnia 1986 r. miała miejsca jedna z największych katastrof energetyki jądrowej – w Czarnobylu na Ukrainie. Tamtego dnia na skutek eksplozji został zniszczony czwarty blok elektrowni jądrowej; doszło do uwolnienia materiału promieniotwórczego i skażenia środowiska. Na skutek tego zdarzenia powstała sztuczna nisza ekologiczna o podwyższonym znacznie poziomie promieniowania – ponad 10^5 razy więcej niż naturalna dawka promieniowania (ok. 2,4 mSv/rok [4]). W regionie zniszczonej elektrowni, w tym z uszkodzonych budynków, gleby, nawet z grafitu stanowiącego element reaktora, wyizolowano ok. 200 gatunków radiotolerancyjnych grzybów strzępkowych (mycelialnych), wśród których często występowały grzyby wytwarzające melaninę. Wg różnych danych grzyby wytwarzające ten barwnik stanowiły 30–100% izolatów. Najczęściej izolowane gatunki to: *Cladosporium sphaerospermum* (także *C. cladosporioides*), *Penicillium hirsutum*; ponadto często izolowano: *Acremonium strictum*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus versicolor* (kropidlak różnobarwny), *Aureobasidium pullulans* (drożdżak), *Cladosporium herbarum*. Inne przykładowe gatunki to: *Aspergillus niger* (kropidlak czarny), *Botrytis cinerea* (gronowiec szary), *Chrysosporium pannorum*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Mucor plumbeus*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium aurantio-griseum*, *P. lanosum*, *P. roseopurpureum*, *P. spinulosum*, *P. stecki*, *P. westlingii*, *Scopulariopsis* sp., *Stachybotrys chartarum*. W miejscach najsilniej skażonych promieniotwórczo (ok. 0,373–2,053 mSv/h, w artykule źródłowym posługiwano się jednostką mR/h) często izolowano: *Aspergillus flavus* (kropidlak żółty), *A. ochraceus* (kropidlak pomarańczowy), *Beauveria bassiana*, *Geotrichum candidum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium citrinum*, *Phialophora melinii*. Wśród wymienionych gatunków dominowały drobnoustroje saprofityczne, fitopatogeny (np. *B. cinerea*, *F. oxysporum*, *F. solani*), sporadycznie gatunki chorobotwórcze dla człowieka (np. *A. niger*, *Geotrichum candidum*). Wiele izolatów z obszaru uszkodzonej elektrowni sklasyfikowano tylko do rodzaju (łącznie ok. 92), należących do gromady *Ascomycota* (workowce), *Basidiomycota* (podstawczaki), *Zygomycota* (sprzężniowce, np. *Mucor*). Uważa się, że promieniowanie w tym regionie ograniczyło różnorodność gatunkową grzybów mikroskopowych oraz przyczyniało się do selekcji szczepów radiotolerancyjnych, często wytwarzających pigmenty. Zaobserwowano, że najczęściej „zmelanizowanych” grzybów

wyizolowano z pozostałości pomieszczeń elektrowni, gdzie występowało największe skażenie radioaktywne. Przyczyny oporności omawianych grzybów na wysokie dawki promieniowania są słabo poznane. Przypuszcza się, że melanina chroni komórki przed wolnymi rodnikami – szczepy bezbarwne są bardziej wrażliwe na radiację. Melanina jest wysokocząsteczkowym barwnikiem o budowie aromatycznej. Składa się z ciemnobrązowej do czarnej eumelaniny oraz z czerwono-brązowej fotomelaniny. Ponadto rozmnażanie bezpłciowe oraz wytwarzanie form przetrwalnych – sklerocjów, zdaniem badaczy są korzystne z punktu widzenia środowiska, w którym występują omawiane drobnoustroje. Grzyby poddane ekspozycji na promieniowanie często wykazywały również większą tendencję do formowania konidiów (zarodników konidialnych) [7, 15, 16, 19, 32, 62–64].

Ciekawym zjawiskiem, które zaobserwowano u części *Fungi* (cecha szczepowa) wyizolowanych z okolic uszkodzonej elektrowni w Czarnobylu, jest (pozytywny) radiotropizm, inaczej mówiąc (intensywniejszy) wzrost strzępki grzybów w kierunku źródła promieniowania. Zjawisko to występowało wg różnych autorów u 86% [19], 66,7% [16] bądź 19% [32] badanych szczepów. Wyizolowane grzyby, wykazujące kierunkowy wzrost ku źródle promieniowania, należały np. do gatunków: *C. cladosporioides*, *C. sphaerospermum*, *P. lilacinus*, *P. hirsutum*, *P. lanosum*, *P. roseopurpureum*, *P. westlingii*. Radiotropizm najczęściej obserwowano na etapie wzrostu młodej strzępki. Grzyby radiotropowe przypuszczalnie wykorzystywały energię z radiacji do wzrostu, do procesów metabolicznych. Mechanizm sensorowy promieniowania nie jest znany, ale część badaczy przypisuje takie właściwości melaninie, która również być może pełni funkcję przekaźnika energii – na podobieństwo chlorofilu. „Zmelanizowane” grzyby *C. sphaerospermum*, *Cryptococcus neoformans* oraz *Wangiella dermatitidis* (drożdżak) wykazywały intensywniejszy, szybszy wzrost (większe CFU i biomasa) po ekspozycji na radiację niż kontrola ujemna (drobnoustroje nie poddane napromienianiu lub napromienowane szczepy albinotyczne). Istnieją alternatywne hipotezy wyjaśniające zaobserwowane zjawisko, np. że nie bezpośrednio radiacja, a ciepło wydzielane do otoczenia, będące następstwem oddziaływania promieniowania z materią, stymuluje do wzrostu grzyby [7, 15, 16, 19, 32, 62, 64].

Występowanie radioopornych, „zmelanizowanych” grzybów mikroskopowych np. *A. versicolor*, *Cladosporium* sp., *Penicillium expansum*, *Saccharomyces* sp., udało się również zaobserwować na stacjach kosmicznych Mir i ISS (*international space station*), gdzie brak ochronnego działania atmosfery ziemskiej, a także w wodzie chłodzącej reaktor w czynnych elektrowniach jądrowych. Grzyby wyizolowane z obiektów w kosmo-

Tabela I
Porównanie wrażliwości na radiację różnych drobnoustrojów

Mikroorganizm [źródło]	Dawka D10 (LD ₉₀) [kGy]
<i>D. radiodurans</i> [33]	10
<i>T. radiovictrix</i> [1]	>5 (60% komórek przeżywa 5 kGy)
<i>T. gammatolerans</i> [33]	4–6
<i>Halobacterium</i> sp. NR28 [33]	5
<i>H. xinjiangensis</i> [27]	4,8
Przetrawalniki bakterii [9]	3–4
<i>P. furiosus</i> [33]	3
<i>Kocuria</i> sp. ASB107 [4]	2
<i>E. coli</i> [33]	0,25

się charakteryzowały się intensywniejszą produkcją barwników, obecnością grubszej otoczki polisacharydowej oraz występowaniem większej liczby wakuol i mitochondriów w komórkach [16]. Również po próbach broni atomowej na atolu Bikini, w archipelagu wysp Marshalla, zaobserwowano występowanie grzybów wytwarzających ciemne pigmenty [64].

Saprophytyczne, radiotolerancyjne grzyby mikroskopowe, szczególnie te wykazujące pozytywny radiotropizm, mogą być wykorzystane do bioremediacji (mykoremediacji) środowiska skażonego pierwiastkami promieniotwórczymi. Zaobserwowano, bowiem zdolność grzybów (cecha szczepowa) do rozkładu materii organicznej skażonej pyłem radioaktywnym, adsorpcji izotopów promieniotwórczych na ścianie komórkowej (także zabita biomasa z mniejszą wydajnością), konwersji do formy rozpuszczalnej oraz inkorporacji do komórki. Przykładowo ¹³⁷Cs jest akumulowany, immobilizowany w komórce przez niektóre szczepy *A. alternata*, *C. cladosporioides*, *Fusarium solani*, *P. roseopur-*

pureum, *Trichoderma viridae* (szczegółowe informacje w tabeli II) [7, 19, 62].

Radiotolerancyjne grzyby mogą być również wykorzystane jako biomarkery (biowskaźniki) stopnia skażenia promieniotwórczego gleb środowisk leśnych:

- wysoki poziom zanieczyszczeń ($3,7 \times 10^6$ – $3,7 \times 10^8$ Bq/kg) – częste występowanie gatunków: *Chaetomium aureum*, *P. lilacinus*,
- średni poziom ($3,7 \times 10^3$ – $3,7 \times 10^5$ Bq/kg) – częste występowanie gatunków: *A. strictum*, *Arthrinium phaeospermum*,
- niski poziom ($< 3,7 \times 10^2$ Bq/kg) – częste występowanie gatunków: *Myrothecium roridum*, *Metarhizium anisoplia* [19].

W tabeli I, na podstawie dostępnych informacji, uszeregowano część omawianych drobnoustrojów pod względem ich wrażliwości na radiację.

4. Podsumowanie

Dyscypliną naukową zajmującą się wpływem promieniowania na organizmy jest radiobiologia. Promieniowanie jonizujące uszkodza DNA, białka, lipidy w komórkach na drodze bezpośredniego oddziaływania oraz na drodze pośredniej – wolnych rodników, ROS. Ekspozycja na promieniowanie może skutkować np. uszkodzeniem zasad azotowych oraz pękaniem wiązań fosfodiesterowych w DNA, delecją fragmentów kwasów nukleinowych, czego efektem mogą być mutacje lub śmierć komórki. Organizmy na drodze ewolucji wykształciły różne mechanizmy zapobiegające uszkodzeniom komórek oraz usuwające powstające defekty, np. enzymy inaktywujące wolne rodniki i ROS – w tym katalaza, wytwarzanie antyoksydantów, różne mechanizmy naprawy DNA (np. BER).

Tabela II
Akumulowanie przez komórki niektórych omawianych organizmów izotopów promieniotwórczych

Gatunek [źródło]	Pierwiastek akumulowany w komórce
<i>A. alternata</i> [19]	¹³⁷ Cs, ⁶⁰ Co
<i>Arthrobacter</i> sp. [52] za Sakaguchi	U (ok. 600 mg/1 g s.m.)
<i>A. niger</i> [62]	Th
<i>Bacillus subtilis</i> [52] za Sakaguchi	U (ok. 600 mg/1 g s.m.)
<i>Candida utilis</i> [19]	Rb
<i>C. cladosporioides</i> , <i>C. sphaerospermum</i> [19, 62]	¹³⁷ Cs, ¹⁵² Eu (w mniejszym stopniu niż cez)
<i>F. solani</i> [19]	¹³⁷ Cs, Rb
<i>P. lilacinus</i> [62]	¹³⁷ Cs, ¹⁵² Eu (w mniejszym stopniu niż cez)
<i>P. roseopurpureum</i> [19, 62]	¹³⁷ Cs, ¹⁵² Eu (w mniejszym stopniu niż cez)
<i>Resinicium bicolor</i> [19]	Sr
<i>Rhizopus</i> sp. [19]	¹⁴ C, ³² P, Th (<i>R. arrhizus</i>)
<i>Stemphylium</i> sp. [19]	¹⁴ C, ³² P
<i>Trichoderma</i> sp. [19]	¹³⁷ Cs (<i>T. viridae</i>), ¹⁴ C, ³² P

Poznano wiele drobnoustrojów radiotolerancyjnych, które sklasyfikowano do domen: *Bacteria*, *Archaea* i *Eukarya*. Przykładowo odkryto grzyby mikroskopowe, występujące w rejonach uszkodzonej elektrowni w Czarnobylu na Ukrainie (np. *Cladosporium* spp.) czy bakterie rosnące w postaci biofilmu na ścianach zbiorników, w których przechowuje się zużyte paliwo z elektrowni jądrowych (np. *Ralstonia* sp., *Burkholderia* sp.). Organizmy na Ziemi pochłaniają rocznie niewielką dawkę promieniowania równą ok. 2,4 mSv. Stąd przypuszcza się, że fenotyp z cechą oporności na promieniowanie powstał w ewolucji pośrednio, jako efekt uboczny mechanizmów komórkowych chroniących przed innymi typami stresu środowiskowego (np. dehydratacją, wysoką temperaturą).

Najlepiej poznanym oraz jednym z najbardziej opornych na promieniowanie drobnoustrojów znanych nauce jest *D. radiodurans*, który przeżywa ekspozycję na promieniowanie równą dawce 10–15 kGy. Ta tlenowa, kulista, Gram-dodatnia, niewytwarzająca spor, nieruchliwa oraz łatwo ulegająca transformacji genetycznej (naturalnej i sztucznej) bakteria od lat budzi zainteresowanie różnych badaczy. Również dużą oporność na promieniowanie wykazują np. *R. radiotolerans*, *M. radiotolerans* czy *Chroococcidiopsis* spp.

W dostępnych pracach naukowych związanych z radiobiologią często pomijana jest kwestia definicji drobnoustrojów radiotolerancyjnych. Podana we wstępie definicja jest niepełna i wymaga uszczegółowienia. Zdaniem autora godne rozważenia jest uściślenie definicji mikroorganizmów radiotolerancyjnych (radioopornych) jako np.: drobnoustroje (eukariotyczne i prokariotyczne) nieprzetrawialne, zdolne do przetrwania (minimum 10% CFU z wyjściowej gęstości zawiesiny 0,5 w skali McFarlanda po 24–72 h inkubacji w optymalnych dla drobnoustroju warunkach) dawki promieniowania γ lub X równej 1,5 kGy, pochłoniętej w ciągu godziny; dla drobnoustrojów wytwarzających spory – dawka np. 4,5 kGy. W przypadku badania wrażliwości organizmów anaerobowych (beztlenowych) na radiację podłoże hodowlane nie powinno zawierać substancji obniżających potencjał redoks (np. kwas askorbinowy, tioglikolan sodu, siarczyn sodu, cysteina), aby nie zawyżać otrzymanego wyniku. W takim przypadku można zastosować np. aerostat.

Mikroorganizmy radiotolerancyjne potencjalnie mogą być wykorzystane do bioremediacji odpadów radioaktywnych, m.in. na drodze bioadsorpcji, bioakumulacji radioizotopów przez komórki (np. ^{137}Cs z udziałem *C. cladosporioides*, *Ralstonia* sp.) lub bioprecypitacji np. uranu za pomocą zmodyfikowanych genetycznie szczepów *D. radiodurans*. Jednakże oporność na promieniowanie nie oznacza pełnej niewrażliwości na radioizotopy. Istotna jest również toksyczność chemiczna metali ciężkich, na które wrażliwe jest wiele

organizmów, w tym *D. radiodurans*. Drobnoustroje odporne na promieniowanie mogą być również wykorzystane do kontroli skuteczności sterylizacji radiacyjnej np. sprzętów medycznych.

Piśmiennictwo

1. Albuquerque L., Simoões C., Nobre M.F., Pino N.M., Battista J.R., Silva M.T., Rainey F.A., Costa M.S.: *Truperia radiovictrix* gen. nov., sp. nov., a new radiation resistant species and the proposal of *Truperaceae* fam. nov. *FEMS Microbiol. Lett.* **247**, 161–169 (2005)
2. Appukuttan D., Seetharam C., Padma N., Rao A.S., Apte S.K.: PhoN-expressing, lyophilized, recombinant *Deinococcus radiodurans* cells for uranium bioprecipitation. *J. Biotechnol.* **154**, 285–290 (2011)
3. Ardini M., Fiorillo A., Fittipaldi M., Stefanini S., Gatteschi D., Ilari A., Chiancone E.: *Kineococcus radiotolerans* Dps forms a heteronuclear Mn-Fe ferroxidase center that may explain the Mn-dependent protection against oxidative stress. *Biochim. Biophys. Acta*, **1830**, 3745–3755 (2013)
4. Asgarani E., Soudi M.R., Borzooee F., Dabbagh R.: Radio-resistance in psychrotrophic *Kocuria* sp. ASB 107 isolated from Ab-e-Siah radioactive spring. *J. Environ. Radioactivity*, **113**, 171–176 (2012)
5. Bagué M., Vera J.P., Rettberg P., Billi D.: The BOSS and BIOMEX space experiments on the EXPOSE-R2 mission: endurance of the desert cyanobacterium *Chroococcidiopsis* under simulated space vacuum, Martian atmosphere, UVC radiation and temperature extremes. *Acta Astronaut.* **91**, 180–186 (2013)
6. Bagwell C.E., Bhat S., Hawkins G.M., Smith B.W., Biswas T., Hoover T.R., Saunders E., Han C.S., Tsodikov O.V., Shimkets L.J.: Survival in nuclear waste, extreme resistance, and potential applications gleaned from the genome sequence of *Kineococcus radiotolerans* SRS30216. *PLoS ONE*, **3**, 1–16 (2008)
7. Belozerskaya T., Aslanidi K., Ivanova A., Gessler N., Egorova A., Karpenko Y., Olishchevskaya S.: Characteristics of extremophilic fungi from Chernobyl nuclear power plant (w) Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology, red. A. Méndez-Vilas, Formatex, Badajoz, 2010, s. 88–94
8. Billi D., Friedmann E.I., Hoffer K.G., Caiola M.G., Ocampo-Friedman R.: Ionizing-radiation resistance in desiccation-tolerant cyanobacterium *Chroococcidiopsis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 1489–1492 (2000)
9. Chicote E., Garcia A.M., Moreno D.A., M.I. Sarró, Lorenzo P.I., Montero F.: Isolation and identification of bacteria from spent nuclear fuel pools. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **32**, 155–162 (2005)
10. Chicote E., Moreno D.A., Garcia A.M., Sarro M.I., Lorenzo P.I., Montero F.: Biofouling on the walls of a spent nuclear fuel pool with radioactive ultrapure water. *Biofouling*, **20**, 35–42 (2004)
11. Chih-Cheng L., Aristine C., Wei-Lun L., Che-Kim T., Yu-Tsung H., Kuei-Pin C., Meng-Rui L., Po-Ren H.: Infections caused by unusual *Methylobacterium* species. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 3329–3331 (2011)
12. Confalonieri F., Sommer S.: Bacterial and archaeal resistance to ionizing radiation. *J. Phys. Conf. Ser.* **261**, 1–15 (2005)
13. Cox M.M., Battista J.R.: *Deinococcus radiodurans* – the consummate survivor. *Nat. Rev. Microbiol.* **3**, 882–892 (2005)
14. Cox M.M., Keck J.L., Battista J.R.: Rising from the ashes: DNA repair in *Deinococcus radiodurans*. *PLoS Genet.* **6**, 1–2 (2010)

15. Dadachova E., Bryan R.A., Huang X., Moadel T., Schweitzer A.D., Aisen P., Nosanchuk J.D., Casadevall A.: Ionizing radiation changes the electronic properties of melanin and enhances the growth of melanized fungi. *PLoS ONE*, **5**, 1–13 (2007)
16. Dadachova E., Casadevall A.: Ionizing radiation: how fungi cope, adapt, and exploit with the help of melanin. *Curr. Opin. Microbiol.* **11**, 525–531 (2008)
17. Daly M.J.: Engineering radiation-resistant bacteria for environmental biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* **11**, 280–285 (2000)
18. Daly M.J., Fredrickson J.K. i wsp.: Protein oxidation implicated as the primary determinant of bacterial radioresistance. *PLoS Biol.* **5**, 769–779 (2007)
19. Dighton J., Tugay T., Zhdanova N.: Fungi and ionizing radiation from radionuclides. *FEMS Microbiol. Lett.* **281**, 109–120 (2008)
20. DiRuggiero J., Santangelo N., Nackerdien Z., Ravel J., Robb F.T.: Repair of extensive ionizing-radiation DNA damage at 95 degrees C in the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*. *J. Bacteriol.* **179**, 4643–4645 (1997)
21. Egas C., Barroso C., Froufe H.J.C., Pacheco J., Albuquerque L., Costa M.S.: Complete genome sequence of the radiation-resistant bacterium *Rubrobacter radiotolerans* RSPS-4. *Stand. Genomics Sci.* **9**, 1062–1075 (2014)
22. Fewer D., Friedl T., Büdel B.: *Chroococcidiopsis* and heterocyst-differentiating cyanobacteria are each other's closest living relatives. *Mol. Phylogenetics Evol.* **23**, 82–90 (2002)
23. Frenkiel-Krispin D., Minsky A.: Nucleoid organization and the maintenance of DNA integrity in *E. coli*, *B. subtilis* and *D. radiodurans*. *J. Struct. Biol.* **156**, 311–319 (2006)
24. Galès G., Libert M.F., Sellier R., Cournac L., Chapon V., Heulin T.: Molecular hydrogen from water radiolysis as an energy source for bacterial growth in a basin containing irradiating waste. *FEMS Microbiol. Lett.* **240**, 155–162 (2004)
25. Galhardo R.S., Rosenberg S.M.: Extreme genome repair. *Cell*, **136**, 998–1000 (2009)
26. Green P.N.: *Methylobacterium*. *Prokaryotes*, **5**, 257–265 (2006)
27. Hang Q., Liu C., Tang Y., Zhou G., Shen P., Fang C., Yokota A.: *Hymenobacter xinjiangensis* sp. nov., a radiation-resistant bacterium isolated from the desert of Xinjiang, China. *Int. J. Systematic. Evol. Microbiol.* **57**, 1752–1756 (2007)
28. Heulin T., De Luca G., Barakat M., Groot A., Blanchard L., Ortet P., Achouak W.: Bacterial adaptation to hot and dry deserts (w) Adaptation of microbial life to environmental extremes, red. Stan-Lotter H., Fendrihan S., Springer-Verlag, Wiedeń, 2012, s. 69–85
29. Holloman W.K., Schirawski J., Holliday R.: Towards understanding the extreme radiation resistance of *Ustilago maydis*. *Trends Microbiol.* **15**, 527–528 (2007)
30. Jolivet E., L'Haridon S., Corre E., Forterre P., Prieur D.: *Thermococcus gammatolerans* sp. nov., a hyperthermophilic archaeon from a deep-sea hydrothermal vent that resists ionizing radiation. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **53**, 847–851 (2003)
31. Joshi B., Schmid R., Altendorf K., Apte S.K.: Protein recycling is a major component of post-irradiation recovery in *Deinococcus radiodurans* strain R1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **320**, 1112–1117 (2004)
32. Kerpenko Y.V., Redchitz T.I., Zheltonozhsky V.A., Dighton J., Zhdanova N.N.: Comparative responses of microscopic fungi to ionizing radiation and light. *Folia Microbiol.* **51**, 45–49 (2006)
33. Kottermann M., Kish A., Iloanusi C., Bjork S., DiRuggiero J.: Physiological responses of the halophilic archaeon *Halobacterium* sp. strain NR28 to desiccation and gamma irradiation. *Extremophiles*, **9**, 219–227 (2005)
34. Kulkarni S., Ballal A., Apte S.K.: Bioprecipitation of uranium from alkaline waste solutions using recombinant *Deinococcus radiodurans*. *J. Hazard. Mater.* **262**, 853–861 (2013)
35. Lloyd J.R., Renshaw J.C.: Bioremediation of radioactive waste: radionuclide-microbe in interactions in laboratory and field-scale studies. *Curr. Opin. Biotechnol.* **16**, 254–260 (2005)
36. Magana-Aracchchi D.N., Wanigatunbge R.P.: First report of genus *Chroococcidiopsis* (cyanobacteria) from Sri Lanka: a potential threat to human health. *J. Nat. Sci. Found. Sri Lanka*, **41**, 65–68 (2013)
37. Makarova K.S., Aravind L., Wolf Y.I., Tatusov R.L., Minton K.W., Koonin E.V., Daly M.J.: Genome of the extremely radiation-resistant bacterium *Deinococcus radiodurans* viewed from the perspective of comparative genomics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **65**, 44–79 (2001)
38. Murray R.K., Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W.: *Biochemia Harpera*. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa, 2006
39. Melin A.M., Perromat A., Délérís G.: Sensitivity of *Deinococcus radiodurans* to γ -irradiation: a novel approach by Fourier transform infrared spectroscopy. *Arch. Biochem Bioph.* **394**, 265–274 (2001)
40. Narumi I.: Unlocking radiation resistance mechanism: still a long way to go. *Trends Microbiol.* **11**, 422–425 (2003)
41. Omelchenko M.V., Wolf Y.I., Gaidamakova E.K., Matrosova V.Y., Vasilenko A., Zhai M., Daly M.J., Koonin E.V., Makarova K.S.: Comparative genomics of *Thermus thermophilus* and *Deinococcus radiodurans*: divergent routes of adaptation to termophily and radiation resistance. *BMC Evol. Biol.* **5**, 109–120 (2005)
42. Pavlov A.K., Kalinin V.L., Konstantinov A.N., Shelegedin V.N., Pavlov A.A.: Was Earth ever infected by Martian biota? Clues from radioresistant bacteria. *Astrobiol.* **6**, 911–918 (2002)
43. Philips R.W., Wiegel J., Berry C.J., Fliermans C., Peacock A.D., White D.C., Shimkets L.J.: *Kineococcus radiotolerans* sp. nov., a radiation-resistant, Gram-positive bacterium. *Int. J. Systematic. Evol. Microbiol.* **52**, 933–938 (2002)
44. Rainey F.A., Costa M.S. i wsp.: Extensive diversity of ionizing-radiation-resistant bacteria recovered from Sonoran Desert soil and description of nine new species of the genus *Deinococcus* obtained from a single soil sample. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 5225–5235 (2005)
45. Różalska M.: Tlenowe pałeczki Gram-ujemne (w) Diagnostyka bakteriologiczna, red. Szewczyk E.M., Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2009, s. 101–110
46. Różalski A.: Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej. Wydawnictwo Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź 2004
47. Sale J.E.: Radiation resistance: resurrection by recombination. *Curr. Biol.* **17**, 12–13 (2007)
48. Sarró M.I., Moreno D.A., Chicote E., Lorenzo P.I., Garcia A.M., Montero F.: Biofouling on austenitic stainless steels in spent nuclear fuel pools. *Mater. Corros.* **54**, 535–540 (2003)
49. Seipp R.: *Deinococcus radiodurans*: does this bug wear a lead vest or what? *BioTeach J.* **1**, 57–62 (2003)
50. Sghaier H.: DNA repair: lessons from the evolution of ionizing-radiation-resistant prokaryotes – fact and theory (w) Selected Topics in DNA Repair, red. Chen C., INTECH Open Access Publisher, 2011, San Diego, s. 145–156
51. Slade D., Lindner A.B., Paul G., Radman M.: Recombination and replication in DNA repair of heavily irradiated *Deinococcus radiodurans*. *Cell*, **136**, 1044–1055 (2009)
52. Suzuki Y., Banfield J.F.: Resistance to, and accumulation of, uranium by bacteria from uranium-contaminated site. *Geomicrobiol. J.* **21**, 113–121 (2004)
53. Terato H., Suzuki K., Nishioka N., Okamoto A., Shimazaki-Tokuyama Y., Inoue Y., Saito T.: Characterization and radiation-resistant function of manganese superoxide dismutase *Rubrobacter radiotolerans*. *J. Radiat. Res.* **52**, 735–742 (2011)
54. Tian B., Hua Y.: Carotenoid biosynthesis in extremophilic *Deinococcus-Thermus* bacteria. *Trends Microbiol.* **18**, 512–520 (2010)

55. Tian B., Xu Z., Sun Z., Lin J., Hua Y.: Evaluation of the antioxidant effects of carotenoids from *Deinococcus radiodurans* through targeted mutagenesis, chemiluminescence and DNA damage analyses. *Biochim. Biophys. Acta*, **1770**, 902–911 (2007)
56. Toueille M., Armengaud J. i wsp.: A comparative proteomics approach to better define *Deinococcus* nucleoid specificities. *J. Proteomics*, **75**, 2588–2600 (2012)
57. Wan P., Yue Z., Xie Z., Gao O., Yu M., Yang Z., Huang J.: Mechanisms of radiation resistance in *Deinococcus radiodurans* R1 revealed by the reconstruction of gene regulatory network using Bayesian network approach. *J. Proteomics Bioinform.* **6**, 1–5 (2013)
58. Williams E., Lowe T.M., Savas J., DiRuggiero J.: Microarray analysis of the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* exposed to gamma irradiation. *Extremophiles*, **11**, 19–29 (2007)
59. Yun Y.S., Lee Y.N.: Production of superoxide dismutase by *Deinococcus radiophilus*. *J. Biochem. Mol. Biol.* **36**, 282–287 (2003)
60. Zahradka K., Slade D., Bailone A., Sommer S., Averbeck D., Petranovic M., Lindner A.B., Radman M.: Reassembly of shattered chromosomes in *Deinococcus radiodurans*. *Nature*, **443**, 569–573 (2006)
61. Zakeri F., Sadeghizadeh M., Kardan M.R., Zahiri H.S., Ahmadian G., Masoumi F., Sharafi H., Rigi G., Vali H., Noghabi K.A.: Differential proteome analysis of a selected bacterial strain isolated from a high background radiation area in response to radium stress. *J. Proteomics*, **75**, 4620–4832 (2012)
62. Zhdanova N.N., Redchits T.I., Zheltonzhsky V.A., Sadovnikov L.V., Gerzabek M.H., Olsson S., Strebl F., Mück K.: Accumulation of radionuclides from radioactive substrata by some micromycetes. *J. Environ. Radioactivity*, **67**, 119–130 (2003)
63. Zhdanova N.N., Tugay T., Dighton J., Zheltonzhsky V., Mcdermott P.: Ionizing radiation attracts soil fungi. *Mycol. Res.* **108**, 1089–1096 (2004)
64. Zhdanova N.N., Zakharchenko V.A., Vember V.V., Nakonechnaya L.T.: Fungi from Chernobyl: mycobiota of the inner regions of the containment structures of the damaged nuclear reactor. *Mycol. Res.* **104**, 1421–1426 (2000)
65. Zivanovic Y., Armengaud J., Lagorce A., Leplat C., Guérin P., Dutertre M., Anthouard V., Forterre P., Wincker P., Confalonieri F.: Genome analysis and genome-wide proteomics of *Thermococcus gammatolerans*, the most radioresistant organism known amongst the *Archaea*. *Genome Biol.* **10**, 1–23 (2009)