Стаття та будь-який пов'язаний з нею опублікований матеріал поширюється за ліцензією Creative Commons Attribution License (CC BY 4.0).
The article and any related published material are licensed under the Creative Commons Attribution License (CC BY 4.0).

УДК 578.85:574.5:504.064
DOI: https://doi.org/10.17721/1728.2748.2026.106.44-53

Ілля ПОЖИЛОВ[1], д-р філософії
ORCID ID: 0000-0002-6259-3740
e-mail: illia.pozhylov@knu.ua

Ганна КОРОТЄЄВА[1], канд. біол. наук, доц.
ORCID ID: 0000-0002-4059-0741
e-mail: hanna.korotieieva@knu.ua

Олексій ШЕВЧЕНКО[1], канд. біол. наук, ст. наук. співроб.
ORCID ID: 0000-0002-4947-8959
e-mail: alexshevchenko@ukr.net

Олександра ФІЛОНЕНКО[1], магістр
ORCID ID: 0000-0002-2554-8609
e-mail: FilonenkoOleksandra02@gmail.com

Ірина БУДЗАНІВСЬКА[1], д-р біол. наук, проф.
ORCID ID: 0000-0003-2538-7312
e-mail: Budzanivskal@knu.ua

[1]Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ВИЯВЛЕННЯ ВІРУСІВ РОСЛИН У ВОДНИХ ЕКОСИСТЕМАХ ТА БІОРЕСУРСАХ ПОВТОРНОГО ВИКОРИСТАННЯ І ОЦІНКА ЇХ ПОТЕНЦІАЛУ ЯК ІНДИКАТОРІВ АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ

В с т у п . ***Водне середовище є місцем локалізації різноманітних вірусів, зокрема фітопатогенних, здатних тривалий час зберігати інфекційність поза організмом хазяїна. Завдяки високій стабільності окремі віруси рослин можуть потрапляти у природні й антропогенно трансформовані водні системи (поверхневі та стічні води й біоресурси повторного використання). На сьогодні інформація щодо поширення фітовірусів у водних екосистемах України залишається обмеженою. Зростання антропогенного навантаження на водні об'єкти й необхідність моніторингу їхнього санітарного стану зумовлюють пошук надійних вірусних індикаторів забруднення. Метою роботи було виявлення фітопатогенних вірусів у водних екосистемах і біоресурсах повторного використання та оцінювання можливості використання окремих фітовірусів як індикаторів антропогенного забруднення водних ресурсів.***

М е т о д и . ***У дослідженні проаналізовано 22 проби води різного походження, зокрема річкової, озерної, водопровідної та стічної, а також зразки кінського гною, тютюнового пилу та курячого компосту. Для концентрування вірусних частинок із проб води використовували метод адсорбції-елюції. Наявність фітопатогенних вірусів і віроїдів визначали методом зворотної транскрипції з подальшою полімеразною ланцюговою реакцією (ЗТ-ПЛР) із застосуванням специфічних праймерів до PMMoV, ToMV, ToBRFV, TMV, TSWV, CGMMV, TAV, ZYMV, CMV, WMV-2 та PSTVd. Для зразків, позитивних на ToMV, проведено секвенування ампліконів за Сенгером і філогенетичний аналіз отриманих послідовностей.***

Р е з у л ь т а т и . ***У результаті проведеного аналізу у 5 із 22 досліджених зразків проб води було виявлено tomato mosaic virus (ToMV). ToMV було ідентифіковано в о. Верховина, ставку № 2 в парку "Нивки", каскаді Китаївських ставків, у Русанівському каналі та стічних водах Бортницької станції аерації. Філогенетичний аналіз часткових генетичних послідовностей показав, що виявлені ізоляти ToMV належать до клади I та кластеризуються з турецьким ізолятом CAN53. Інші досліджувані віруси й віроїд у пробах води не виявлені. Також усі зазначені фітопатогени не було виявлено у зразках кінського гною, тютюнового пилу та курячого компосту.***

В и с н о в к и . ***Отримані результати свідчать про поширення ToMV у водних екосистемах різного типу й підтверджують його здатність зберігатися у водному середовищі. Вибіркове виявлення ToMV за відсутності інших досліджуваних фітопатогенів узгоджується з даними щодо високої екологічної стабільності представників роду Tobamovirus. Це дає змогу розглядати ToMV як перспективний індикатор вірусного забруднення водних ресурсів і підкреслює необхідність подальших досліджень ролі водного середовища у поширенні фітопатогенних вірусів.***

К л ю ч о в і с л о в а : ***вірус, ToMV, водні екосистеми, біоресурси повторного використання, вірусне забруднення, ЗТ-ПЛР, філогенетичний аналіз, біоіндикація навколишнього середовища.***

Вступ

Чисельність і різноманіття вірусів вражає. Станом на сьогодні описано більше десятка тисяч видів, а їхня кількість, за оцінками, може сягати приблизно 10^9. Вони присутні у всіх природних екосистемах Землі, але більшість із них є вірусами бактерій, і лише незначна частка вірусів здатна інфікувати рослини, тварин і людину (Koonin et al., 2023). Значна кількість віріонів, близько 10^{21} із передбачуваних 10^{31}, міститься в атмосфері у складі хмар (Rahlff, & Amato, 2025). Віруси рослин є визнаними факторами ризику для рослинництва, оскільки вони призводять до щорічних втрат врожаю. Понад 40 років віруси рослин ідентифікують у різних водних об'єктах: від поверхневих і стічних вод до джерел питного постачання (Haramoto et al., 2013; Jeżewska et al., 2018; Jeżewska et al., 2019). Для окремих видів вірусів експериментально підтверджено здатність тривалий час зберігати стабільність та інфекційність у водному

© Пожилов Ілля, Коротєєва Ганна, Шевченко Олексій, Будзанівська Ірина, 2026

середовищі (Li et al., 2016). Завдяки високій стабільності ці патогени можуть безперешкодно потрапляти до джерел питного й поливного постачання, що зумовлює необхідність дослідження водних ресурсів як потенційних осередків накопичення та поширення інфекцій. Показано, що деякі види вірусів рослин родів *Tobamovirus*, *Cucumovirus* та *Potexvirus* мають високостабільні віріони, які здатні витримувати агресивні умови шлунково-кишкового тракту людини та тварин і можуть потрапляти в агроекосистеми через зрошення (Pares et al., 1992; Thebo et al, 2017; Bačnik et al., 2020). Виявлення фітовірусів у стічних водах обґрунтовує потенційну можливість їх використання як показників ефективності очищення вод і фекального забруднення. Глобальні метагеномні дослідження показують значну варіабельність у складі вірусів між регіонами, однак у всіх міських стоках стабільно домінують cucumber green mild mottle virus (CGMMV) і pepper mild mottle virus (PMMoV). Їхні частки у вірусних спільнотах можуть суттєво відрізнятися залежно від регіону: PMMoV характеризується відносно високою присутністю у зразках, відібраних із різних частин світу, але менше представлений в Азії, у той час як CGMMV більше присутній у зразках із Європи, Азії та Північної Америки. Інші тобамовіруси, такі як tobacco mosaic virus (TMV) чи tobacco mild green mosaic virus (TMGMV), проявляють регіональну специфічність. Також у стічних водах були ідентифіковані інші, нещодавно відкриті фітовіруси, зокрема tomato brown rugose fruit virus (ToBRFV), що свідчить про їхню епідеміологічну значущість (Cuevas-Ferrando et al., 2025; Worp et al., 2025). PMMoV вирізняється високою стабільністю, значними кількостями та відсутністю сезонних коливань, легко виявляється молекулярними методами та є безпечним у роботі, що робить його зручним потенційним індикатором (Zhang et al., 2006; Rosario et al., 2009; Kitajima et al., 2018). Водночас, обмеженням його використання є невідповідність між динаміками поширення людських вірусів і хімічних контамінантів, а також його нерегулярне виявлення у підземних і питних водах, що потребує подальших досліджень (Kuroda et al., 2015). Також як вірусний індикатор для водоочисних систем пропонують використовувати ToBRFV (Li et al., 2026).

З іншого боку, вода є не єдиним джерелом поширення фітовірусів в агроекосистемах. Важливим аспектом оцінювання ризиків вірусного забруднення є присутність вірусів у вторинних біоресурсах, таких як компост, органічні добрива, мульча, рослинні рештки та продукти їхньої переробки (силос, дигестат). В умовах циркулярної економіки ці субстрати дедалі ширше застосовуються для покращення ґрунтів, проте вони можуть слугувати джерелом первинної інфекції у разі використання інфікованої сировини (Noble, & Roberts, 2004). Дослідження процесів компостування свідчать, що хоча під час термофільної стадії (50–60 °C) інактивується більшість фітопатогенів, окремі високостабільні віруси й віроїди здатні зберігатися за цих умов (Wichuk et al., 2011). Зокрема, було продемонстровано стійкість hop latent viroid (HLVd) протягом семи тижнів під час компостування. Є дані, що дотримання технологічних параметрів силосування чи зброджування мінімізує ризики інфікування рослин. Показано, що ToMV зберігає інфекційність в анаеробних умовах переробки біомаси, тоді як потівіруси (напр. potato virus Y, PVY) інактивуються, що свідчить про суттєві відмінності у стабільності фітовірусів (Shevchenko et al., 2023). Швидкість інактивації патогену також залежить від пористості субстрату, температури, pH і мікробіологічної активності, яка підвищується у разі додавання дигестату (Hagemann et al., 2024).

Застосування несертифікованих органічних добрив створює ризики інтродукції вірусів до агроекосистем, що потребує впровадження високочутливих методів їх визначення. В умовах антропогенного тиску й руйнування інфраструктури в Україні комплексне оцінювання біобезпеки водних ресурсів і вторинної сировини є стратегічно важливим для забезпечення екологічної стійкості та збереження аграрного потенціалу.

Метою роботи було виявлення вірусів рослин у водних екосистемах і біоресурсах повторного використання, а також попереднє оцінювання їхнього потенціалу як індикаторів антропогенного забруднення.

Методи

Зразки води, включаючи поверхневі води, водопровідну воду та стічні води очисних споруд, відбирали у різних локаціях м. Києва, а також Київської, Хмельницької, Сумської і Чернігівської областей. Відбір здійснювали у стерильні ємності об'ємом 1 л із глибини 10–15 см від поверхні води (Міністерство охорони здоров'я України, 2007). Зразки компостованого кінського гною відбирали з кількох точок на глибині 10-40 см. Зразки кінського гною включали свіжий матеріал (період зберігання кілька місяців) і витриманий гній (декілька сезонів), що давало змогу оцінити можливий вплив тривалості зберігання на збереження вірусних генетичних сигнатур. Додатково використовували комерційні зразки тютюнового пилу та курячого компосту українського виробництва (табл. 1). Усі зразки маркували, транспортували в термоконтейнерах з охолоджувальними елементами (4 °C) і зберігали в холодильнику до проведення лабораторних досліджень.

Зразки води відстоювали впродовж 30 хв за кімнатної температури для осадження грубодисперсних частинок, після чого фільтрували крізь стерильний фільтрувальний папір. Отриманий фільтрат центрифугували при 5000 об/хв упродовж 15 хв. Надосадову рідину відбирали для подальшого концентрування. Концентрування здійснювали методом адсорбції-елюції (Ikner et al., 2012). Надосад після центрифугування пропускали через стерильний мембранний фільтр із розміром пор 0,2 мкм за допомогою шприца. Концентрування вірусів відбувалося за рахунок їх адсорбції на поверхні мембрани (Prado et al., 2014). Для елюції адсорбованих вірусних частинок через фільтр у зворотному напрямку пропускали 200 мкл буферного розчину, елюат збирали у стерильні мікропробірки.

Для зразків води виділення тотальних нуклеїнових кислот проводили з використанням набору GeneJET Viral DNA/RNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США) згідно з інструкцією виробника (https://www.favorgen.com/en/product.php?act=view&cid=140&id=45).

Для складних матеріалів (тютюновий пил і компост) застосовували додаткове очищення, що включало гомогенізацію у буфері з тіоціанатом гуанідину, екстракцію хлороформом і послідовне осадження ізопропанолом і 4М хлоридом літію (Cathala et al., 1983; Manning, 1991). Якість і цілісність нуклеїнових кислот оцінювали методом електрофорезу в 1,5 %-му агарозному гелі (Sharp et al., 1973).

Зворотну транскрипцію проводили з використанням ферменту M-MuLV Reverse Transcriptase (New England Biolabs, США) із застосуванням випадкових гексамерних праймерів (Random Hexamer Primer, Thermo, США) згідно з інструкцією виробника (https://www.neb.com/en/products/m0253-m-mulv-reverse-transcriptase). Отриману кДНК використовували як матрицю для подальшої ПЛР із вірус-специфічними праймерами.

Таблиця 1

Зразки, відібрані для дослідження

№	Тип зразка	Місце відбору	Область
1	Поверхневі води	О. Верховина, Святошинський район	Київ
2	Поверхневі води	Р. Дніпро, Труханів острів, Дніпровський район	Київ
3	Стічні води	Інститут урології ім. акад. О. Ф. Возіанова НАМН України	Київ
4	Стічні води	Бортницька станція аерації	Київ
5	Поверхневі води	О. Андріївське, Оболонський район	Київ
6	Поверхневі води	О. Синє, Подільський район	Київ
7	Поверхневі води	Середній Китаївський ставок, Голосіївський район	Київ
8	Поверхневі води	Ставок №2 на р. Сирець у парку "Нивки", Шевченківський район	Київ
9	Водопровідна вода	Святошинський район	Київ
10	Водопровідна вода	Голосіївський район	Київ
11	Поверхневі води	Голосіївські ставки, Голосіївський район	Київ
12	Поверхневі води	Русанівський канал	Київ
13	Поверхневі води	Озеро на острові. Муромець, Деснянський район	Київ
14	Поверхневі води	О. Святошинське, Святошинський район	Київ
15	Поверхневі води	Нижній каскад Вигурівських озер, Північно-Дарницький канал, Деснянський район	Київ
16	Поверхневі води	Тимчасова водойма, Голосіївський район	Київ
17	Поверхневі води	Ставок на р. Петіль, с. Іванковичі Обухівського району	Київська
18	Поверхневі води	Р. Малий Рамен, с. Великий Самбір Конотопського району	Сумська
19	Поверхневі води	Проточна ділянка на р. Хомора, Полонне Шепетівського району	Хмельницька
20	Поверхневі води	Шлюз на р. Хомора, Полонне Шепетівського району	Хмельницька
21	Поверхневі води	Став Великий, с. Качанівка Прилуцького району	Чернігівська
22	Компост	Компостований кінський гній (свіжий)	
23	Компост	Компостований кінський гній (витриманий)	
24	Компост	Компостований курячий послід	
25	Рослинний матеріал	Тютюновий пил (виробник 1)	
26	Рослинний матеріал	Тютюновий пил (виробник 2)	

Ампліфікацію проводили з використанням OneTaq® 2X Master Mix with Standard Buffer (New England Biolabs, США). ПЛР проводили згідно з інструкцією виробника (https://www.neb.com/en/products/m0482-onetaq-2x-master-mix-with-standard-buffer) з дотриманням такого температурного режиму: початкова денатурація – 95 °C, 5 хв, 30 циклів (95 °C – 30 с, 55 °C – 30 с, 72 °C – 45 с), фінальна елонгація – 72 °C, 5 хв. Детектували такі віруси рослин: PMMoV, ToMV, ToBRFV, TMV, TSWV, CGMMV, TAV, ZYMV, CMV, WMV-2, а також віроїд PSTVd (табл. 2 додаткових матеріалів).

Таблиця 2

Послідовності олігонуклеотидних праймерів, що використовувались у роботі

Вірус	Послідовність	Розмір продукту, пн	Посилання
PMMoV	TACTTCGGCGTTAGGCAATC	387	Jarret et al., 2008
	GGAGTTGTAGCCCAGGTGAG		
ToMV	CGGAAGGCCTAAACCAAAAAG	700	Letschert et al., 2002
	ATTTAAGTGGAGGGAAAAACACT		
ToBRFV	CACAATCGCAACTCCATCGC	458	Panno et al., 2019
	CAGAGGACCATTGTAAACCGG		
PSTVd	CCCTGAAGCGCTCCTCCGAG	360	Weidemann, & Buchta, 1998
	ATCCCGGGGAAACCTGGAGCGAAC		
TMV	GGCTACGTCGCCGAATCGGA	710	Шевченко, & Поліщук, 2001
	GGGGTAACGGGGGATTCGA		
TSWV	TTAAGCAAGTTCTGTGAG	800	Jain et al., 1998
	ATGTCTAAGGTTAAGCTC		
CGMMV	CAAATCGGAGGTGGACTCT	620	Будзанівська, & Поліщук, 2014
	GTGTGCACCACCATCAGAAG		
TAV	CTAGAATGGCCCAAAACGGTACG	682	Maddahian et al., 2017
	ACGTCGTGCATGCGTGTCGAA		
ZYMV	ATGTCGAGTATCACATTTCC	605	Desbiez et al., 2002
	GGTTCATGTCCCACCAAGC		
CMV	TATGATAAGAAGCTTGTTTCGCGCA	500	Desbiez et al., 1996
	TTTTAGCCGTAAGCTGGATGGACAACCC		
WMV	GAATCAGTGTCTCTGCAATCAGG	821	Sharifi et al., 2008
	ATTCACGTCCCTTGCAGTGTG		
WSMV	GAGAGCAATACTGCGTGTACG	750	Kúdela et al., 2008
	GCATAATGGCTCGAAGTGATG		
BSMV	GTGAGGAGGTGATGGGTAAT	417	Снігур, 2006
	TTCCAGTCTTTCAGAATCTCTC		
AMV	TCCATCATGAGTTCTTCAC	751	Finetti Sialer et al., 1997
	AGGACTTCATACCTTGACC		

ISSN 1728-3817 (Print), ISSN 3083-7952 (Online)

Вибір об'єктів дослідження ґрунтувався на літературних даних щодо їх поширення в агроекосистемах України й потенційної високої стабільності у навколишньому середовищі. Для кожного зразка та кожної вірусної мішені ампліфікацію виконували у трьох технічних повторах (окремі реакційні суміші). У кожній серії проведення досліду використовували негативний контроль (реакційна суміш без матриці). Продукти ампліфікації розділяли у 1,5 %-му агарозному гелі, забарвленому бромідом етидію, разом із маркером молекулярної маси CSL-MDNA-100BP (Cleaver Scientific, Сполучене Королівство), і візуалізували в УФ-світлі. Амплікони очищали з використанням набору GeneJET Gel Extraction Kit (Thermo Scientific, Литва) і секвенували методом Сенгера на приладі ABI 3730XL (Applied Biosystems, США).

Отримані нуклеотидні послідовності аналізували за допомогою інструменту BLAST (NCBI, https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi). Множинне вирівнювання виконували з використанням стандартних алгоритмів, після чого філогенетичне дерево будували методом максимальної правдоподібності із застосуванням трьохпараметричної моделі Тамури (Tamura 3-parameter, Tamura, 1992) у програмному пакеті MEGA7 (Kumar et al., 2016).

Результати

На першому етапі роботи було досліджено 22 проби води, а також зразки кінського гною, тютюнового пилу й курячого компосту методом ЗТ-ПЛР на наявність досліджуваних фітопатогенних вірусів і віроїдів (PMMoV, ToMV, ToBRFV, TMV, TSWV, CGMMV, TAV, ZYMV, CMV, WMV-2, PSTVd). У результаті проведеного аналізу з усіх досліджених агентів у 5 із 22 досліджених проб води ідентифіковано лише tomato mosaic virus (ToMV). Вірус був ідентифікований у таких локаціях (рис. 1): о. Верховина, стічні води Бортницької станції аерації, озеро в парку "Нивки", Китаївські ставки та Русанівський канал. Інші досліджувані віруси та віроїд у жодному зі зразків води, кінського гною, тютюнового пилу та курячого компосту виявлені не були.

Отримані результати слід розглядати в контексті відомих даних щодо поширення вірусів рослин в Україні. За даними досліджень, віруси родин *Virgaviridae*, *Bromoviridae* та *Potyviridae* широко розповсюджені в овочевих агроекосистемах України, а також у природних і культурних рослинних угрупованнях. Зокрема, наявність PMMoV, ToMV, ToBRFV, PSTVd, TMV, TSWV, CGMMV, TAV, ZYMV, CMV, WMV-2, WSMV, BSMV, AMV у агроценозах України багаторазово підтверджувалася як серологічними, так і молекулярними методами (Kastalyeva et al., 2011; Sherepitko, 2012; Snihur, & Shevchenko, 2013; Peregudova et al., 2013; Shamraichuk et al., 2013; Budzanivska et al., 2016; Shevchenko et al., 2016; Mishchenko et al., 2018; Burba, & Snihur, 2024; Tsvigun et al., 2024; Shevchenko et al., 2026 a; 2026 b; Шерепітко, 2012). Отже, відсутність більшості очікуваних вірусів у досліджених водних пробах загалом не засвідчує їх відсутність у регіоні, а, імовірно, зумовлена особливостями їх потрапляння та збереження у водному середовищі.

Вибіркове виявлення ToMV можна пояснити кількома факторами. По-перше, наявність вірусів у воді значною мірою залежить від локальних джерел контамінації, зокрема наявності інфікованих рослин у межах водозбірної території. Відомо, що ToMV здатний ефективно зберігатися у рослинних рештках і передаватися механічно, що підвищує імовірність його потрапляння у водні об'єкти. По-друге, ефективність концентрування вірусів методом адсорбції-елюції може відрізнятися залежно від фізико-хімічних властивостей віріонів, що впливає на їх зв'язування з мембранами. По-третє, не можна виключити вплив інгібіторів ПЛР, особливо у зразках зі складною матрицею. Крім того, концентрація вірусного генетичного матеріалу могла бути нижчою за межу детекції методу. У сукупності це свідчить про те, що виявлений ToMV є одним із небагатьох вірусів, здатних ефективно зберігатися та циркулювати у водному середовищі, що узгоджується з його високою екологічною стабільністю.

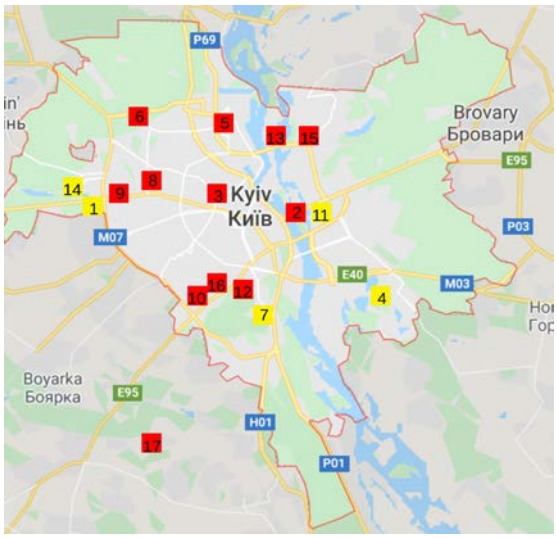


Рис. 1. Мапа відбору зразків у м. Київ. Квадратами позначені місця відбору зразків води: 1 – о. Верховина; 2 – Труханів острів; 3 – Інститут урології імені академіка О. Ф. Возіанова НАМН України; 4 – Бортницька станція аерації; 5 – о. Андріївське; 6 – о. Синє; 7 – Китаївські ставки; 8 – ставок № 2 на р. Сирець, парк "Нивки"; 9 – Святошинський район; 10 – Голосіївський район; 11 – Русанівський канал; 12 – Голосіївські озера; 13 – острів Муромець; 14 – Святошинське озеро; 15 – нижній каскад Вигурівських озер, Північно-Дарницький канал, Деснянський район; 16 – тимчасова водойма, Голосіївський район; 17 – ставок на р. Петіль, с. Іванковичі Обухівського району. Жовтим позначені місця, з яких було відібрано зразки, позитивні на ToMV. Фрагмент карти отриманий з сервісу https://www.google.com/maps

Для підтвердження належності ампліфікованих фрагментів до ToMV та оцінювання їх генетичної спорідненості було проведено сиквенування та філогенетичний аналіз отриманих нуклеотидних послідовностей. Отримані послідовності ToMV були депоновані до бази даних GenBank під номерами доступу PZ273050 та PZ273051.

Згідно із сучасними уявленнями, популяції ToMV поділяються на декілька основних філогенетичних кластерів (клади I–III), що відображають їхню еволюційну дивергенцію (Rangel et al., 2012). Майже всі відомі на сьогодні ізоляти цього вірусу належать до двох основних клад, що мали останнього спільного предка близько середини вісімнадцятого сторіччя. При цьому, хоча більшу частину своєї еволюційної історії ToMV мав обмежене поширення, із середини XX сторіччя інтенсифікувалось міжрегіональне передання (Xu et al., 2021), що обумовлює присутність ізолятів з Європи, Азії, Близького Сходу, Південної та Північної Америк серед представників обох великих клад. У межах проведеного дослідження обидва отримані ізоляти ToMV, ідентифіковані у водних об'єктах м. Києва, належать до клади I

та формують окремий кластер. Вони демонструють високу нуклеотидну ідентичність між собою (97 %), що може свідчити про спільне або близьке джерело контамінації, оскільки, попри відносно високу різницю між різними штамами й нерівномірну швидкість еволюційних змін у різних частинах геному, загалом геном ToMV є доволі консервативним (Lyu et al., 2023). Водночас, згідно з результатами порівняльного аналізу, за рівнем попарної нуклеотидної ідентичності досліджені українські ізоляти ToMV (PZ273050 та PZ273051) є ближчими до ряду ізолятів із Бразилії, Південної Кореї, Нідерландів, Сербії та Китаю (до 93,2–93,9 % і 97–97,3 %, відповідно), ніж до турецького ізоляту CAN53 (91,8 %). Незважаючи на це, філогенетичний аналіз (рис. 2.) демонструє їх кластеризацію саме з турецьким ізолятом.

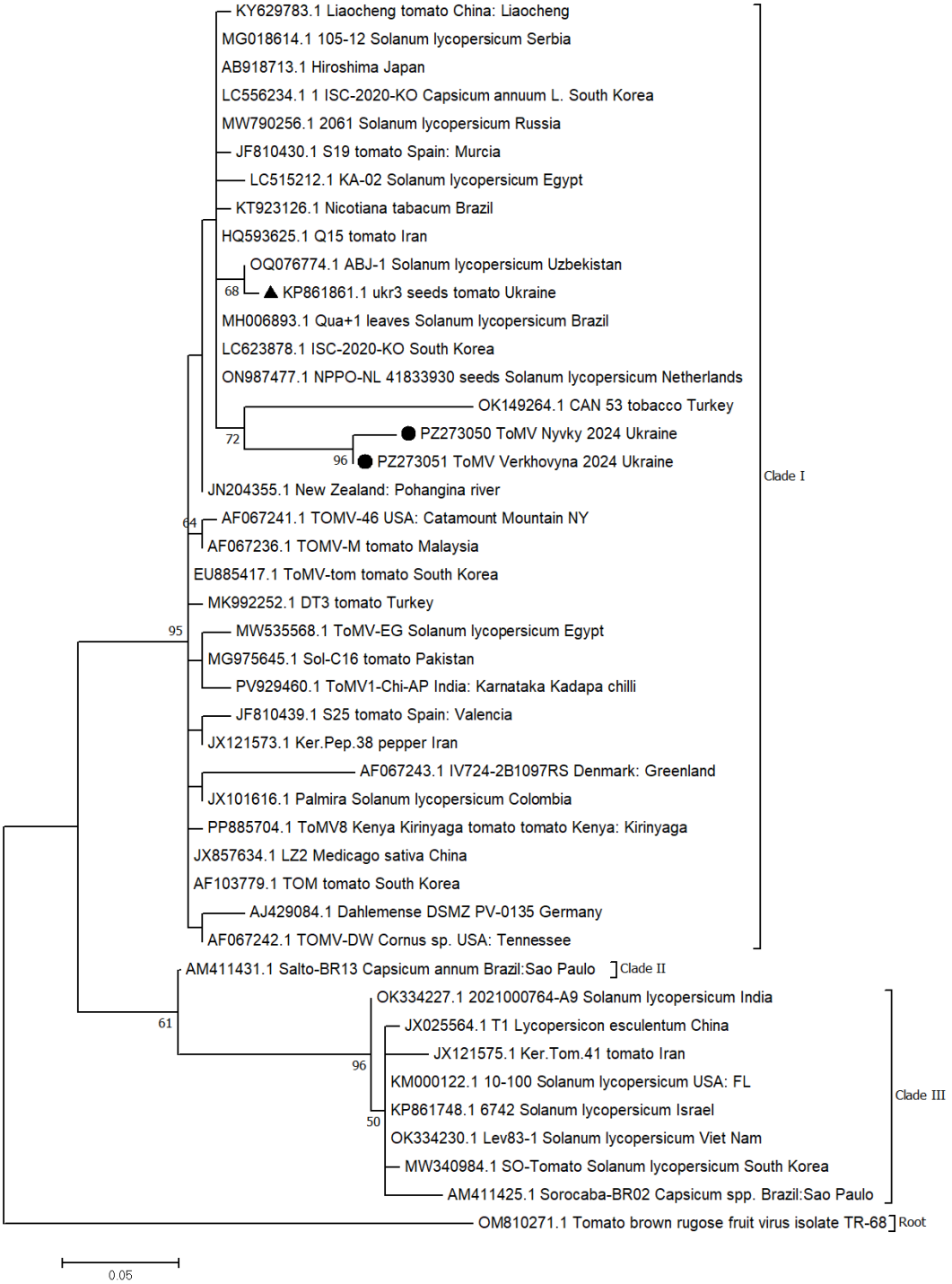


Рис. 2. Філогенетичний аналіз часткових послідовностей гену капсидного білка 43 ізолятів ToMV. Філогенетичне дерево побудоване методом Maximum Likelihood на основі трьохпараметричної моделі Тамури (Tamura, 1992) у програмному пакеті MEGA7 (Kumar et al., 2016) з 1000 бутстреп-реплікаціями. Кругами позначені ізоляти, отримані в цій роботі, трикутником – український ізолят із бази даних. Як корінь застосовано ізолят TR-68 ToBRFV. Шкала відображає кількість заміщень на сайт

Туреччина є одним із провідних експортерів томатів для України (World Integrated Trade Solution, 2023), що потенційно може сприяти поширенню асоційованих вірусів через насіння або рослинний матеріал. Наявні дані свідчать, що тобамовіруси широко виявляються у стічних водах і можуть зберігати інфекційність у навколишньому середовищі. Для окремих представників цієї групи (зокрема PMMoV) показано їх асоціацію з фекальним забрудненням і харчовими джерелами (Kitajima et al., 2018). Хоча аналогічний механізм для ToMV не був безпосередньо продемонстрований, отримані результати узгоджуються з припущенням про його надходження у водне середовище через контаміновану рослинну продукцію та подальше антропогенне перенесення.

Отже, у результаті проведеного дослідження методом ЗТ-ПЛР фітопатогенні віруси й віроїди були проаналізовані у пробах води й органічних субстратах, однак ToMV був виявлений лише у 5 із 22 водних пробах, тоді як інші досліджувані патогени не були виявлені. Виявлення ToMV у різних типах водних об'єктів свідчить про його здатність до ефективної циркуляції у водному середовищі, що, імовірно, зумовлено поєднанням високої екологічної стабільності вірусу й особливостями його надходження з локальних джерел контамінації. Філогенетичний аналіз показав, що отримані ізоляти належать до клади I, характеризуються високою подібністю між собою та формують кластер разом із турецьким ізолятом CAN53, що узгоджується з можливим спільним походженням і відображає слабку географічну структурованість популяцій ToMV. Сукупність отриманих даних указує на те, що ToMV є одним із фітовірусів, здатних зберігатися та виявлятися у водному середовищі за умов, коли інші широко розповсюджені віруси залишаються поза межами детекції.

Дискусія і висновки

Наявність вірусів рослин у водному середовищі є добре задокументованим явищем, причому особливу увагу привертають представники роду *Tobamovirus* завдяки їхній високій екологічній стабільності, широкому колу хазяїв (переважно родини *Solanaceae* та *Cucurbitaceae*) і потенціалу використання як індикаторів фекального забруднення, а також для моніторингу з метою раннього виявлення та відстежування емерджентних вірусів рослин (Kitajima et al., 2018; International Committee on Taxonomy of Viruses, 2022; Worp et al., 2025). У цьому дослідженні проаналізовано поширення вірусів рослин у водних об'єктах м. Київ та інших населених пунктів Київської, Хмельницької, Сумської і Чернігівської областей, а також у вторинних біоресурсах, і оцінено їхню придатність для використання як біоіндикаторів.

PMMoV вважається одним із найпоширеніших РНК-вірусів у фекаліях людини, що безпосередньо пов'язано зі споживанням продуктів, які містять перець (Symonds et al., 2018). Його присутність у неочищених та очищених стічних водах, часто у високих концентраціях, описана для різних регіонів світу, а також установлено характерний градієнт зменшення концентрації від стічних вод до питної води без виражених сезонних коливань (Rosario et al., 2009; Farkas et al., 2020; Kitajima et al., 2014). Отримані нами результати лише частково узгоджуються із цими спостереженнями, оскільки PMMoV у досліджених зразках не був виявлений. Це може свідчити про обмежену придатність PMMoV як універсального індикатора вірусного забруднення для водних екосистем регіону м. Київ та інших досліджуваних водойм України. Така невідповідність може бути зумовлена як особливостями харчових вподобань населення, так і специфічними екологічними умовами басейну р. Дніпро, що впливають на стабільність вірусів і розбавлення концентрації вірусних частинок.

На відміну від PMMoV, ToMV був виявлений у кількох різних водних об'єктах, включаючи як стічні, так і поверхневі води. Це узгоджується з даними міжнародних досліджень, у яких ToMV виявляли в різноманітних середовищах – від дренажних вод лісових екосистем до атмосферних аерозолів і навіть льодових кернів (Castello et al., 1995; Ahangar et al., 2020). Така поширеність підкреслює високу стабільність вірусу та його здатність до тривалого збереження у навколишньому середовищі.

Виявлення ToMV у водних об'єктах м. Київ, імовірно, зумовлене сукупністю факторів. По-перше, широкий спектр рослин-хазяїв збільшує кількість потенційних джерел забруднення. По-друге, значні обсяги вирощування та споживання томатів створюють умови для потрапляння вірусу у стічні води через рослинні рештки. Виявлення ToMV у пробах зі стічних вод підтверджує цей шлях надходження. По-третє, його присутність у рекреаційних водоймах свідчить про роль дифузних джерел забруднення, таких як поверхневий стік або дренаж із урбанізованих територій.

Отримані результати дають змогу розглядати ToMV як потенційно більш релевантний індикатор вірусного забруднення водного середовища порівняно з PMMoV, принаймні для умов м. Київ чи подібних локалітетів.

Відсутність детектованих вірусів у зразках вторинних біоресурсів (гній, компост, тютюновий пил), на перший погляд, суперечить даним про високу стабільність тобамовірусів у рослинних рештках. Однак це можна пояснити ефективністю технологій процесів обробки, що призводить до зниження рівня фітопатогенів, оскільки за вищих температур і тривалішого впливу більшість вірусів інактивується до рівня, нижчого за межу детекції (Noble, & Roberts, 2004; Hagemann et al., 2024). Таким чином, відсутність вірусних генетичних сигнатур у досліджених зразках може відображати як ефективну інактивацію, так і низький початковий рівень контамінації. Водночас ці результати слід інтерпретувати обережно, ураховуючи можливий вплив інгібіторів ПЛР та обмеження чутливості методу. Це особливо актуально для зразків із високим вмістом гумінових речовин, зокрема компосту або органічних добрив.

Узагальнюючи, можна зазначити, що отримані дані підкреслюють необхідність локальної валідації вірусних індикаторів перед їх використанням у системах моніторингу. Крім того, вони свідчать про доцільність подальшого розвитку чутливих методів детекції для складних матеріалів, а також необхідність систематичного моніторингу водних ресурсів і вторинних біоресурсів із метою зниження ризиків поширення вірусів у агроекосистемах.

Внесок авторів: Ілля Пожилов – збирання емпіричних даних та їх валідація, емпіричне дослідження, написання (перегляд і редагування); Ганна Коротєєва – написання (перегляд і редагування); Олексій Шевченко – концептуалізація, методологія, написання (перегляд і редагування); Олександра Філоненко – збирання емпіричних даних та їх валідація, емпіричне дослідження, написання (оригінальна чернетка); Ірина Будзанівська – концептуалізація, методологія, написання (перегляд і редагування).

Джерела фінансування. Досліджування фінансувалось за кошти Національного фонду досліджень України (грант № 2025.05/0038: "Молекулярно-генетичний аналіз фітовірусів у біоресурсах повторного використання: оптимізація методик та оцінка біологічної безпеки").

Список використаних джерел

Будзанівська, І. Г., & Поліщук, В. П. (2014). *Філогенетичний аналіз РНК-вмісних вірусів рослин, що циркулюють на території України*. ПП "Формат".

Міністерство охорони здоров'я України. (2007). *Про затвердження методичних вказівок "Санітарно-вірусологічний контроль водних об'єктів"*. Наказ № 284. https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/en/v0284282-07

Снігур, Г. О. (2006). *Епідеміологія вірусів зернових культур в агроценозах України* [Неопублікована дисертація кандидата біологічних наук]. Київський національний університет імені Тараса Шевченка.

Шевченко, Т., & Поліщук, В. (2001). Частковий аналіз ділянки геному двох ізолятів ВТМ. *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Біологія*, 35, 62–63.

Шерепітко, Д. В. (2012). *Молекулярно-генетичні та біологічні властивості вірусів (soybean mosaic potyvirus, alfalfa mosaic alfamovirus), ідентифікованих на сої в умовах Правобережного Лісостепу України* [Неопублікована дисертація кандидата біологічних наук]. Київський національний університет імені Тараса Шевченка.

Bačnik, K., Kutnjak, D., & Pecman, A. (2020). Viromics and infectivity analysis reveal the release of infective plant viruses from wastewater into the environment. *Water Research*, 177, Article 115628. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115628

Budzanivska, I., Shevchenko, T., Shevchenko, O., & Polishchuk, P. (2016). Phylogenetic analysis of Ukrainian isolates of RNA viruses of plants. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 32(3), 10–19. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:198923974

Burba, P., & Snihur, H. (2024). Biological characterization of an Ukraine isolate of Alfalfa mosaic virus. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 99(4), 5–10. https://doi.org/10.17721/1728.2748.2024.99.5-10

Cathala, G. U. Y., Savouret, J. F., Mendez, B., West, B. L., Karin, M., Martial, J. A., & Baxter, J. D. (1983). A method for isolation of intact, translationally active ribonucleic acid. *DNA*, 2(4), 329–335. https://doi.org/10.1089/dna.1983.2.329

Cuevas-Ferrando, E., Sanchez, G., & Perez-Cataluna, A. (2025). Exploring plant virus diversity in wastewater and reclaimed water through metagenomic analysis. *Water Research*, 270, Article 122827. https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122827

Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., & Lecoq, H. (2002). Biological and serological variability, evolution and molecular epidemiology of Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV, Potyvirus) with special reference to Caribbean islands. *Virus Research*, 85(1), 5–16. https://doi.org/10.1016/s0168-1702(02)00013-8

Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., Granier, F., Robaglia, C., Delaunay, T., & Lecoq, H. (1996). Biological and molecular variability of Zucchini yellow mosaic virus in the island of Martinique. *Plant Disease*, 80(2), 203–207. https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1996Articles/PlantDisease80n02_203.pdf

Farkas, K., Walker, D. I., Adriaenssens, E. M., & Jones, D. L. (2020). Viral indicators for tracking domestic wastewater contamination in the aquatic environment. *Water Research*, 181, Article 115926. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115926

Finetti Sialer, M., Di Franco, A., Papanice, M. A., & Gallitelli, D. (1997). Tomato necrotic yellows induced by a novel strain of Alfalfa mosaic virus. *Journal of Plant Pathology*, 79(2), 115–120.

Hagemann, M. H., Treiber, C., Sprich, E., Born, U., Lutz, K., Stampfl, J., & Radišek, S. (2024). Composting and fermentation: Mitigating hop latent viroid infection risk in hop residues. *European Journal of Plant Pathology*, 169(4), 771–786. https://doi.org/10.1007/s10658-024-02869-2

Haramoto, E., Kitajima, M., Kishida, N., Konno, Y., Katayama, H., Asami, M., & Akiba, M. (2013). Occurrence of pepper mild mottle virus in drinking water sources in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(23), 7413–7418. https://doi.org/10.1128/AEM.02354-13

Ikner, L. A., Gerba, C. P., & Bright, K. R. (2012). Concentration and recovery of viruses from water: A comprehensive review. *Food and Environmental Virology*, 4(2), 41–67. https://doi.org/10.1007/s12560-012-9080-2

International Committee on Taxonomy of Viruses. (2022). *Virus taxonomy: 2022 release*. https://ictv.global/taxonomy/

Jain, R. K., Pappu, S. S., Pappu, H. R., Culbreath, A. K., & Todd, J. W. (1998). Molecular diagnosis of tomato spotted wilt tospovirus infection of peanut and other field and greenhouse crops. *Plant Disease*, 82(8), 900–904. https://doi.org/10.1094/pdis.1998.82.8.900

Jarret, R. L., Gillaspie, A. G., Barkley, N. A., & Pinnow, D. L. (2008). The occurrence and control of Pepper mild mottle virus (PMMoV) in the USDA/ARS Capsicum germplasm collection. *Seed Technology*, 30(1), 26–36.

Jeżewska, M., Trzmiel, K., & Zarzyńska-Nowak, A. (2019). Detection of infectious Brome mosaic virus in irrigation ditches and draining strands in Poland. *European Journal of Plant Pathology*, 153(1), 285–292. https://doi.org/10.1007/s10658-018-1531-7

Jeżewska, M., Zarzyńska-Nowak, A., & Trzmiel, K. (2018). Detection of infectious tobamoviruses in irrigation and drainage canals in Greater Poland. *Journal of Plant Protection Research*, 58(2), 202–205. https://doi.org/10.24425/119126

Kastalyeva, T., Girsova, N., Mozhaeva, K., Kolomiets, L., Lee, I. M., & Owens, R. (2011). Comparison of Russian and Ukrainian isolates of Potato spindle tuber viroid (PSTVd). *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 58(3), 10–12. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/28

Kitajima, M., Iker, B. C., Pepper, I. L., & Gerba, C. P. (2014). Relative abundance and treatment reduction of viruses during wastewater treatment processes: Identification of potential viral indicators. *Science of the Total Environment*, 488–489, 290–296. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.087

Kitajima, M., Sassi, H. P., & Torrey, J. R. (2018). Pepper mild mottle virus as a water quality indicator. *npj Clean Water*, 1, Article 19. https://doi.org/10.1038/s41545-018-0019-5

Koonin, E. V., Krupovic, M., & Dolja, V. V. (2023). The global virome: How much diversity and how many independent origins? *Environmental Microbiology*, 25(1), 40–44. https://doi.org/10.1111/1462-2920.16207

Kúdela, O., Kúdelová, M., Nováková, S., & Glasa, M. (2008). First report of Wheat streak mosaic virus in Slovakia. *Plant Disease*, 92(9), 1365. https://doi.org/10.1094/PDIS-92-9-1365C

Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874. https://doi.org/10.1093/molbev/msw054

Kuroda, K., Nakada, N., Hanamoto, S., Inaba, M., Katayama, H., Do, T. A., & Tanaka, H. (2015). Pepper mild mottle virus as an indicator and a tracer of fecal pollution in water environments: Comparative evaluation with wastewater-tracer pharmaceuticals in Hanoi, Vietnam. *Science of the Total Environment*, 506–507, 287–298. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.020

Letschert, B., Adam, G., Lesemann, D. E., Willingmann, P., & Heinze, C. (2002). Detection and differentiation of serologically cross-reacting tobamoviruses of economical importance by RT-PCR and RT-PCR-RFLP. *Journal of Virological Methods*, 106(1), 1–10. https://doi.org/10.1016/s0166-0934(02)00135-0

Li, J. X., Liu, S. S., & Gu, Q. S. (2016). Transmission efficiency of Cucumber green mottle mosaic virus via seeds, soil, pruning and irrigation water. *Journal of Phytopathology*, 164(5), 300–309. https://doi.org/10.1111/jph.12457

Li, L., Khan, M., Haak, L., Verma, S. C., & Pagilla, K. (2026). High prevalence of tomato brown rugose fruit virus in domestic wastewater as a potential viral indicator for treatment systems. *Scientific Reports*, 16, Article 4698. https://doi.org/10.1038/s41598-025-34782-x

Lyu, J., Yang, Y., Sun, X., Jiang, S., Hong, H., Zhu, X., & Liu, Y. (2023). Genetic variability and molecular evolution of Tomato mosaic virus populations in three Northern China provinces. *Viruses*, 15(7), Article 1617. https://doi.org/10.3390/v15071617

Maddahian, M., Massumi, H., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A., & Varsani, A. (2017). Characterization of Iranian Tomato aspermy virus isolates with a variant 2b gene sequence. *Tropical Plant Pathology*, 42(6), 475–484. https://doi.org/10.1007/s40858-017-0173-1

Manning, K. (1991). Isolation of nucleic acids from plants by differential solvent precipitation. *Analytical Biochemistry*, 195(1), 45–50. https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90292-2

Mishchenko, L. T., Dunich, A. A., Mishchenko, I. A., Petrenkova, V. P., & Mukha, T. I. (2018). Monitoring of economically important wheat viruses under weather conditions change in Ukraine and investigation of seed transmission of Wheat streak mosaic virus. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(4), 639–646. https://www.agrojournal.org/24/04-18.pdf

Noble, R., & Roberts, S. J. (2004). Eradication of plant pathogens and nematodes during composting: A review. *Plant Pathology*, 53(5), 548–568. https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.01059.x

Panno, S., Caruso, A., & Davino, S. (2019). First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato crops in Italy. *Plant Disease*, 103(6), 1443. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2254-PDN

Pares, R. D., Gunn, L. V., & Cresswell, G. C. (1992). Tomato mosaic virus infection in a recirculating nutrient solution. *Journal of Phytopathology*, 135(3), 192–198. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1992.tb01266.x

Peregudova, A., Korotyeyeva, G., Kompanets, T., & Polischuk, V. (2013). Detection of Arabis mosaic and Tomato aspermy viruses infecting orchids of natural Ukrainian flora. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 65(3), 60–62. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/34

Prado, T., Gaspar, A. M. C., & Miagostovich, M. P. (2014). Detection of enteric viruses in activated sludge by feasible concentration methods. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(1), 343–349. https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000100049

Rahlff, J., & Amato, P. (2025). A look into the virosphere of clouds: A world yet to be explored. *Current Research in Microbial Sciences*, 8, Article 100545. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2025.100545

Rangel, E. A., Alfaro-Fernández, A., Font-San-Ambrosio, M. I., Luis-Arteaga, M., & Rubio, L. (2011). Genetic variability and evolutionary analyses of the coat protein gene of Tomato mosaic virus. *Virus Genes*, 43(3), 435–438. https://doi.org/10.1007/s11262-011-0651-3

Rosario, K., Symonds, E. M., Sinigalliano, C., Stewart, J., & Breitbart, M. (2009). Pepper mild mottle virus as an indicator of fecal pollution. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(22), 7261–7267. https://doi.org/10.1128/AEM.00410-09

Shamraichuk, V., Shevchenko, T., Bysov, A., & AlDalayn, E. (2013). Novel Tobamovirus isolated from vegetable crops in Ukraine. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 65(3), 66–68. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/34

Sharifi, M., Massumi, H., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A., Shaabanian, M., & Rahimian, H. (2008). Analysis of the biological and

molecular variability of Watermelon mosaic virus isolates from Iran. *Virus Genes*, 37(3), 304–313. https://doi.org/10.1007/s11262-008-0271-8

Sharp, P. A., Sugden, B., & Sambrook, J. (1973). Detection of two restriction endonuclease activities in Haemophilus parainfluenzae using analytical agarose-ethidium bromide electrophoresis. *Biochemistry*, 12(16), 3055–3063. https://doi.org/10.1021/bi00740a018

Shevchenko, O., Kharina, A., Snihur, H., Shevchenko, T., & Budzanivska, I. (2023). Viruses demonstrate selective survival during simulated anaerobic digestion of plant biomass. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 85(5), 55–65. https://doi.org/10.15407/microbiolj85.05.055

Shevchenko, O., Pozhylov, I., Shevchenko, T., Andriichuk, O., Korotieieva, H., & Budzanivska, I. (2026 a). First report of tomato brown rugose fruit virus infecting greenhouse tomatoes in Ukraine. *Journal of Plant Pathology*, 108(1), 1–2. https://doi.org/10.1007/s42161-026-02168-1

Shevchenko, T., Snihur, H., Pozhylov, I., & Kyrychenko, A. (2026 b). Biological characterization and phylogenetic analysis of Ukrainian barley stripe mosaic virus isolates. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 133(2), Article 38. https://doi.org/10.1007/s41348-026-01234-1

Shevchenko, T., Tymchyshyn, O., Kosenko, I., Budzanivska, I., & Polischuk, V. (2016). Potyviruses infecting vegetable crops in Ukraine. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 72(2), 48–52. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/56

Snihur, H., & Shevchenko, O. (2013). Diagnostics of seed-borne cereal viruses in agriecosystems of Ukraine. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 65(3), 77–80. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/34

Symonds, E. M., Nguyen, K. H., Harwood, V. J., & Breitbart, M. (2018). Pepper mild mottle virus: A plant pathogen with a greater purpose in (waste) water treatment development and public health management. *Water Research*, 144, 1–12. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.06.066

Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases. *Molecular Biology and Evolution*, 9(4), 678–687. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752

Thebo, A. L., Drechsel, P., & Lambin, E. F. (2017). A global, spatially-explicit assessment of irrigated croplands influenced by urban wastewater flows. *Environmental Research Letters*, 12(7), Article 074008. https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa75d1

Tsvigun, V. O., Levishko, A. S., Gumeniuk, I. I., & Mazur, S. O. (2024). Monitoring of viral infections in vegetable crops in agroecosystems of Ukraine. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 86(5), 87–101. https://doi.org/10.15407/microbiolj86.05.087

Weidemann, H. L., & Buchta, U. (1998). A simple and rapid method for the detection of potato spindle tuber viroid (PSTVd) by RT-PCR. *Potato Research*, 41(1), 1–8. https://doi.org/10.1007/BF02360256

Wichuk, K. M., Tewari, J. P., & McCartney, D. (2011). Plant pathogen eradication during composting: A literature review. *Compost Science & Utilization*, 19(4), 244–266. https://doi.org/10.1080/1065657X.2011.10737008

World Integrated Trade Solution. (2023). *Ukraine tomatoes, fresh or chilled imports by country in 2023*. World Bank. https://wits.worldbank.org/trade/comtrade/en/country/UKR/year/2023/tradeflow/Imports/partner/ALL/product/070200

Worp, N., Nieuwenhuijse, D. F., Izquierdo-Lara, R. W., Schapendonk, C. M., Brinch, C., Jensen, E. E. B., & de Graaf, M. (2025). Unveiling the global urban virome through wastewater metagenomics. *Nature Communications*, 16(1), Article 10707. https://doi.org/10.1038/s41467-025-10707-x

Xu, Y., Zhang, S., Shen, J., Wu, Z., Du, Z., & Gao, F. (2021). The phylogeographic history of Tomato mosaic virus in Eurasia. *Virology*, 554, 42–47. https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.12.009

Zhang, T., Breitbart, M., Lee, W. H., Run, J. Q., Wei, C. L., Soh, S. W. L., Hibberd, M. L., Liu, E. T., & Rohwer, F. (2006). RNA viral community in human feces: Prevalence of plant pathogenic viruses. *PLoS Biology*, 4(1), Article e3. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040003

References

Bačnik, K., Kutnjak, D., & Pecman, A. (2020). Viromics and infectivity analysis reveal the release of infective plant viruses from wastewater into the environment. *Water Research*, 177, Article 115628. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115628

Budzanivska, I. H., & Polishchuk, V. P. (2014). *Phylogenetic analysis of RNA-containing plant viruses circulating in the territory of Ukraine*. PP "Format" [in Ukrainian].

Budzanivska, I., Shevchenko, T., Shevchenko, O., & Polishchuk, P. (2016). Phylogenetic analysis of Ukrainian isolates of RNA viruses of plants. *Acta Microbiologica Bulgarica*, 32(3), 10–19. https://api.semanticscholar.org/CorpusID:198923974

Burba, P., & Snihur, H. (2024). Biological characterization of an Ukraine isolate of Alfalfa mosaic virus. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 99(4), 5–10. https://doi.org/10.17721/1728.2748.2024.99.5-10

Cathala, G. U. Y., Savouret, J. F., Mendez, B., West, B. L., Karin, M., Martial, J. A., & Baxter, J. D. (1983). A method for isolation of intact, translationally active ribonucleic acid. *DNA*, 2(4), 329–335. https://doi.org/10.1089/dna.1983.2.329

Cuevas-Ferrando, E., Sanchez, G., & Perez-Cataluna, A. (2025). Exploring plant virus diversity in wastewater and reclaimed water through metagenomic analysis. *Water Research*, 270, Article 122827. https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122827

Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., & Lecoq, H. (2002). Biological and serological variability, evolution and molecular epidemiology of Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV, Potyvirus) with special reference to Caribbean islands. *Virus Research*, 85(1), 5–16. https://doi.org/10.1016/s0168-1702(02)00013-8

Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., Granier, F., Robaglia, C., Delaunay, T., & Lecoq, H. (1996). Biological and molecular variability of Zucchini yellow mosaic virus in the island of Martinique. *Plant Disease*, 80(2), 203–207. https://www.apsnet.org/publications/plantdisease/backissues/Documents/1996Articles/PlantDisease80n02_203.pdf

Farkas, K., Walker, D. I., Adriaenssens, E. M., & Jones, D. L. (2020). Viral indicators for tracking domestic wastewater contamination in the aquatic environment. *Water Research*, 181, Article 115926. https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115926

Finetti Sialer, M., Di Franco, A., Papanice, M. A., & Gallitelli, D. (1997). Tomato necrotic yellows induced by a novel strain of Alfalfa mosaic virus. *Journal of Plant Pathology*, 79(2), 115–120.

Hagemann, M. H., Treiber, C., Sprich, E., Born, U., Lutz, K., Stampfl, J., & Radišek, S. (2024). Composting and fermentation: Mitigating hop latent viroid infection risk in hop residues. *European Journal of Plant Pathology*, 169(4), 771–786. https://doi.org/10.1007/s10658-024-02869-2

Haramoto, E., Kitajima, M., Kishida, N., Konno, Y., Katayama, H., Asami, M., & Akiba, M. (2013). Occurrence of pepper mild mottle virus in drinking water sources in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(23), 7413–7418. https://doi.org/10.1128/AEM.02354-13

Ikner, L. A., Gerba, C. P., & Bright, K. R. (2012). Concentration and recovery of viruses from water: A comprehensive review. *Food and Environmental Virology*, 4(2), 41–67. https://doi.org/10.1007/s12560-012-9080-2

International Committee on Taxonomy of Viruses. (2022). *Virus taxonomy: 2022 release*. https://ictv.global/taxonomy/

Jain, R. K., Pappu, S. S., Pappu, H. R., Culbreath, A. K., & Todd, J. W. (1998). Molecular diagnosis of tomato spotted wilt tospovirus infection of peanut and other field and greenhouse crops. *Plant Disease*, 82(8), 900–904. https://doi.org/10.1094/pdis.1998.82.8.900

Jarret, R. L., Gillaspie, A. G., Barkley, N. A., & Pinnow, D. L. (2008). The occurrence and control of Pepper mild mottle virus (PMMoV) in the USDA/ARS Capsicum germplasm collection. *Seed Technology*, 30(1), 26–36.

Jeżewska, M., Trzmiel, K., & Zarzyńska-Nowak, A. (2019). Detection of infectious Brome mosaic virus in irrigation ditches and draining strands in Poland. *European Journal of Plant Pathology*, 153(1), 285–292. https://doi.org/10.1007/s10658-018-1531-7

Jeżewska, M., Zarzyńska-Nowak, A., & Trzmiel, K. (2018). Detection of infectious tobamoviruses in irrigation and drainage canals in Greater Poland. *Journal of Plant Protection Research*, 58(2), 202–205. https://doi.org/10.24425/119126

Kastalyeva, T., Girsova, N., Mozhaeva, K., Kolomiets, L., Lee, I. M., & Owens, R. (2011). Comparison of Russian and Ukrainian isolates of Potato spindle tuber viroid (PSTVd). *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 58(3), 10–12. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/28

Kitajima, M., Iker, B. C., Pepper, I. L., & Gerba, C. P. (2014). Relative abundance and treatment reduction of viruses during wastewater treatment processes: Identification of potential viral indicators. *Science of the Total Environment*, 488–489, 290–296. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.087

Kitajima, M., Sassi, H. P., & Torrey, J. R. (2018). Pepper mild mottle virus as a water quality indicator. *npj Clean Water*, 1, Article 19. https://doi.org/10.1038/s41545-018-0019-5

Koonin, E. V., Krupovic, M., & Dolja, V. V. (2023). The global virome: How much diversity and how many independent origins? *Environmental Microbiology*, 25(1), 40–44. https://doi.org/10.1111/1462-2920.16207

Kúdela, O., Kúdelová, M., Nováková, S., & Glasa, M. (2008). First report of Wheat streak mosaic virus in Slovakia. *Plant Disease*, 92(9), 1365. https://doi.org/10.1094/PDIS-92-9-1365C

Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874. https://doi.org/10.1093/molbev/msw054

Kuroda, K., Nakada, N., Hanamoto, S., Inaba, M., Katayama, H., Do, T. A., & Tanaka, H. (2015). Pepper mild mottle virus as an indicator and a tracer of fecal pollution in water environments: Comparative evaluation with wastewater-tracer pharmaceuticals in Hanoi, Vietnam. *Science of the Total Environment*, 506–507, 287–298. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.11.020

Letschert, B., Adam, G., Lesemann, D. E., Willingmann, P., & Heinze, C. (2002). Detection and differentiation of serologically cross-reacting tobamoviruses of economical importance by RT-PCR and RT-PCR-RFLP. *Journal of Virological Methods*, 106(1), 1–10. https://doi.org/10.1016/s0166-0934(02)00135-0

Li, J. X., Liu, S. S., & Gu, Q. S. (2016). Transmission efficiency of Cucumber green mottle mosaic virus via seeds, soil, pruning and irrigation water. *Journal of Phytopathology*, 164(5), 300–309. https://doi.org/10.1111/jph.12457

Li, L., Khan, M., Haak, L., Verma, S. C., & Pagilla, K. (2026). High prevalence of tomato brown rugose fruit virus in domestic wastewater as a potential viral indicator for treatment systems. *Scientific Reports*, 16, Article 4698. https://doi.org/10.1038/s41598-025-34782-x

Lyu, J., Yang, Y., Sun, X., Jiang, S., Hong, H., Zhu, X., & Liu, Y. (2023). Genetic variability and molecular evolution of Tomato mosaic virus populations in three Northern China provinces. *Viruses*, 15(7), Article 1617. https://doi.org/10.3390/v15071617

Maddahian, M., Massumi, H., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A., & Varsani, A. (2017). Characterization of Iranian Tomato aspermy virus isolates with a variant 2b gene sequence. *Tropical Plant Pathology*, 42(6), 475–484. https://doi.org/10.1007/s40858-017-0173-1

Manning, K. (1991). Isolation of nucleic acids from plants by differential solvent precipitation. *Analytical Biochemistry*, 195(1), 45–50. https://doi.org/10.1016/0003-2697(91)90292-2

Ministry of Health of Ukraine. (2007). *On approval of methodological instructions "Sanitary and virological control of water bodies".* Order No. 284 [in Ukrainian]. https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/en/v0284282-07

Mishchenko, L. T., Dunich, A. A., Mishchenko, I. A., Petrenkova, V. P., & Mukha, T. I. (2018). Monitoring of economically important wheat viruses under weather conditions change in Ukraine and investigation of seed transmission of Wheat streak mosaic virus. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 24(4), 639–646. https://www.agrojournal.org/24/04-18.pdf

Noble, R., & Roberts, S. J. (2004). Eradication of plant pathogens and nematodes during composting: A review. *Plant Pathology*, 53(5), 548–568. https://doi.org/10.1111/j.0032-0862.2004.01059.x

Panno, S., Caruso, A., & Davino, S. (2019). First report of Tomato brown rugose fruit virus on tomato crops in Italy. *Plant Disease*, 103(6), 1443. https://doi.org/10.1094/PDIS-12-18-2254-PDN

Pares, R. D., Gunn, L. V., & Cresswell, G. C. (1992). Tomato mosaic virus infection in a recirculating nutrient solution. *Journal of Phytopathology*, 135(3), 192–198. https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.1992.tb01266.x

Peregudova, A., Korotyeyeva, G., Kompanets, T., & Polischuk, V. (2013). Detection of Arabis mosaic and Tomato aspermy viruses infecting orchids of natural Ukrainian flora. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 65(3), 60–62. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/34

Prado, T., Gaspar, A. M. C., & Miagostovich, M. P. (2014). Detection of enteric viruses in activated sludge by feasible concentration methods. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(1), 343–349. https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000100049

Rahlff, J., & Amato, P. (2025). A look into the virosphere of clouds: A world yet to be explored. *Current Research in Microbial Sciences*, 8, Article 100545. https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2025.100545

Rangel, E. A., Alfaro-Fernández, A., Font-San-Ambrosio, M. I., Luis-Arteaga, M., & Rubio, L. (2011). Genetic variability and evolutionary analyses of the coat protein gene of Tomato mosaic virus. *Virus Genes*, 43(3), 435–438. https://doi.org/10.1007/s11262-011-0651-3

Rosario, K., Symonds, E. M., Sinigalliano, C., Stewart, J., & Breitbart, M. (2009). Pepper mild mottle virus as an indicator of fecal pollution. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(22), 7261–7267. https://doi.org/10.1128/AEM.00410-09

Shamraichuk, V., Shevchenko, T., Bysov, A., & AlDalayn, E. (2013). Novel Tobamovirus isolated from vegetable crops in Ukraine. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 65(3), 66–68. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/34

Sharifi, M., Massumi, H., Heydarnejad, J., Hosseini Pour, A., Shaabanian, M., & Rahimian, H. (2008). Analysis of the biological and molecular variability of Watermelon mosaic virus isolates from Iran. *Virus Genes*, 37(3), 304–313. https://doi.org/10.1007/s11262-008-0271-8

Sharp, P. A., Sugden, B., & Sambrook, J. (1973). Detection of two restriction endonuclease activities in Haemophilus parainfluenzae using analytical agarose-ethidium bromide electrophoresis. *Biochemistry*, 12(16), 3055–3063. https://doi.org/10.1021/bi00740a018

Sherepitko, D. V. (2012). *Molecular-genetic and biological properties of viruses (soybean mosaic potyvirus, alfalfa mosaic alfamovirus) identified on soybean under environmental conditions of Forest-steppe zone of Ukraine* [Unpublished doctoral dissertation]. Taras Shevchenko National University of Kyiv [in Ukrainian].

Shevchenko, O., Kharina, A., Snihur, H., Shevchenko, T., & Budzanivska, I. (2023). Viruses demonstrate selective survival during simulated anaerobic digestion of plant biomass. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 85(5), 55–65. https://doi.org/10.15407/microbiolj85.05.055

Shevchenko, O., Pozhylov, I., Shevchenko, T., Andriichuk, O., Korotieieva, H., & Budzanivska, I. (2026 a). First report of tomato brown rugose fruit virus infecting greenhouse tomatoes in Ukraine. *Journal of Plant Pathology*, 108(1), 1–2. https://doi.org/10.1007/s42161-026-02168-1

Shevchenko, T., & Polishchuk, V. (2001). Partial analysis of the genome region of two isolates of TMV. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 35, 62–63 [in Ukrainian].

Shevchenko, T., Snihur, H., Pozhylov, I., & Kyrychenko, A. (2026 b). Biological characterization and phylogenetic analysis of Ukrainian barley stripe mosaic virus isolates. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 133(2), Article 38. https://doi.org/10.1007/s41348-026-01234-1

Shevchenko, T., Tymchyshyn, O., Kosenko, I., Budzanivska, I., & Polischuk, V. (2016). Potyviruses infecting vegetable crops in Ukraine. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 72(2), 48–52. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/56

Snihur, H. O. (2006). *Epidemiology of grain viruses in agrocenoses of Ukraine* [Unpublished doctoral dissertation]. Taras Shevchenko National University of Kyiv [in Ukrainian].

Snihur, H., & Shevchenko, O. (2013). Diagnostics of seed-borne cereal viruses in agriecosystems of Ukraine. *Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Biology*, 65(3), 77–80. https://bio.visnyk.knu.ua/uk/libraryFiles/downloadPublic/34

Symonds, E. M., Nguyen, K. H., Harwood, V. J., & Breitbart, M. (2018). Pepper mild mottle virus: A plant pathogen with a greater purpose in (waste) water treatment development and public health management. *Water Research*, 144, 1–12. https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.06.066

Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases. *Molecular Biology and Evolution*, 9(4), 678–687. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040752

Thebo, A. L., Drechsel, P., & Lambin, E. F. (2017). A global, spatially-explicit assessment of irrigated croplands influenced by urban wastewater flows. *Environmental Research Letters*, 12(7), Article 074008. https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa75d1

Tsvigun, V. O., Levishko, A. S., Gumeniuk, I. I., & Mazur, S. O. (2024). Monitoring of viral infections in vegetable crops in agroecosystems of Ukraine. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*, 86(5), 87–101. https://doi.org/10.15407/microbiolj86.05.087

Weidemann, H. L., & Buchta, U. (1998). A simple and rapid method for the detection of potato spindle tuber viroid (PSTVd) by RT-PCR. *Potato Research*, 41(1), 1–8. https://doi.org/10.1007/BF02360256

Wichuk, K. M., Tewari, J. P., & McCartney, D. (2011). Plant pathogen eradication during composting: A literature review. *Compost Science & Utilization*, 19(4), 244–266. https://doi.org/10.1080/1065657X.2011.10737008

World Integrated Trade Solution. (2023). *Ukraine tomatoes, fresh or chilled imports by country in 2023*. World Bank. https://wits.worldbank.org/trade/comtrade/en/country/UKR/year/2023/tradeflow/Imports/partner/ALL/product/070200

Worp, N., Nieuwenhuijse, D. F., Izquierdo-Lara, R. W., Schapendonk, C. M., Brinch, C., Jensen, E. E. B., & de Graaf, M. (2025). Unveiling the global urban virome through wastewater metagenomics. *Nature Communications*, 16(1), Article 10707. https://doi.org/10.1038/s41467-025-10707-x

Xu, Y., Zhang, S., Shen, J., Wu, Z., Du, Z., & Gao, F. (2021). The phylogeographic history of Tomato mosaic virus in Eurasia. *Virology*, 554, 42–47. https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.12.009

Zhang, T., Breitbart, M., Lee, W. H., Run, J. Q., Wei, C. L., Soh, S. W. L., Hibberd, M. L., Liu, E. T., & Rohwer, F. (2006). RNA viral community in human feces: Prevalence of plant pathogenic viruses. *PLoS Biology*, 4(1), Article e3. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040003

Отримано редакцією журналу / Received: 07.07.26
Прорецензовано / Revised: 13.08.26
Схвалено до друку / Accepted: 15.09.26
Опубліковано / Publishe: 27.10.26

Illia POZHYLOV[1], PhD
ORCID ID: 0000-0002-6259-3740
e-mail: illia.pozhylov@knu.ua

Hanna KOROTIEIEVA[1], PhD (Biol.), Assoc. Prof.
ORCID ID: 0000-0002-4059-0741
e-mail: hanna.korotieieva@knu.ua

Oleksiy SHEVCHENKO[1], PhD (Biol.), Senior Researcher
ORCID ID: 0000-0002-4947-8959
e-mail: alexshevchenko@ukr.net

Oleksandra FILONENKO[1], Master of Science
ORCID ID: 0000-0002-2554-8609
e-mail: FilonenkoOleksandra02@gmail.com

Iryna BUDZANIVSKA[1], DSc (Biol.), Prof
ORCID ID: 0000-0003-2538-7312
e-mail: Budzanivskal@knu.ua

[1]Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

DETECTION OF PLANT VIRUSES IN AQUATIC ECOSYSTEMS AND RECYCLED BIORESOURCES AND THEIR POTENTIAL AS INDICATORS OF ANTHROPOGENIC CONTAMINATION

Background. ***Aquatic environments constitute important reservoirs of viruses, including plant pathogens capable of maintaining infectivity outside their hosts for extended periods. Owing to their environmental stability, certain plant viruses can persist and spread through both natural and anthropogenically influenced water systems, reaching surface waters, wastewater, and reusable biological resources. Despite growing interest in environmental virology, information on the occurrence of phytopathogenic viruses in aquatic ecosystems of Ukraine remains limited. Increasing anthropogenic pressure on water bodies and the need for effective environmental monitoring highlight the importance of identifying reliable viral indicators of contamination. The aim of this study was to detect plant pathogenic viruses in aquatic ecosystems and reusable biological resources and to evaluate their potential as indicators of anthropogenic pollution.***

Methods. ***A total of 22 water samples, including river, lake, tap, and wastewater, as well as samples of horse manure, tobacco dust, and chicken compost, were analyzed. Viral particles from water samples were concentrated using an adsorption–elution approach. RNA was extracted using standard molecular techniques. The presence of plant viruses and viroid was assessed by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) using specific primers targeting PMMoV, ToMV, ToBRFV, TMV, TSWV, CGMMV, TAV, ZYMV, CMV, WMV-2, and PSTVd. Amplicons obtained from ToMV-positive samples were Sanger-sequenced and subjected to phylogenetic analysis.***

Results. ***Tomato mosaic virus (ToMV) RNA was detected in 5 of the 22 analyzed water samples, whereas the remaining viruses and viroid have not been detected. Positive detections were obtained from Lake Verkhovyna, Lake Nyvky, Kytaiv ponds, the Rusanivka canal, and wastewater from the Bortnychi Aeration Station. No viral or viroid signatures were detected in horse manure, tobacco dust, or chicken compost samples. Phylogenetic analysis demonstrated that detected ToMV isolates belonged to clade I and clustered with the Turkish isolate CAN53.***

Conclusions. ***The findings demonstrate the occurrence of ToMV in different types of aquatic ecosystems and support its ability to persist in water environments. The selective detection of ToMV, combined with the absence of other investigated phytopathogens, is consistent with the well-documented environmental stability of tobamoviruses. These results suggest that ToMV may serve as a promising indicator of viral contamination in water resources and emphasize the need for further studies addressing the role of aquatic environments in the circulation and dissemination of plant pathogenic viruses.***

Keywords: ***virus, ToMV, aquatic ecosystems, recycled bioresources, viral contamination, RT-PCR, phylogenetic analysis, environmental monitoring.***

Декларація про генеративний штучний інтелект та технології, що використовують штучний інтелект. Під час підготовки цієї статті автори використовували ChatGPT (OpenAI) для роботи з текстом, Google Scholar Labs (Google) для пошуку наукових джерел, а також ШІ-асистента на базі DeepSeek для редагування та удосконалення тексту. Штучний інтелект не використовувався для генерації контенту та роботи з ілюстраціями. Після використання цих інструментів автори самостійно перевірили, проаналізували та підтвердили всі запропоновані джерела й текстові виправлення та несуть повну відповідальність за зміст статті.

Declaration of Generative AI and AI-Assisted Technologies. During the preparation of this work, the authors used ChatGPT (OpenAI) for text work, Google Scholar Labs (Google) for searching scientific literature, and an AI assistant based on DeepSeek for text editing and refinement. Artificial intelligence was not used for content generation and illustration work Following the use of these tools, the authors reviewed, verified, and analyzed all suggested sources and text edits, and take full responsibility for the content of the article.

Етична декларація. Дослідження є аналізом зразків води, стічних вод і біоресурсів повторного використання. Воно не передбачає безпосередньої взаємодії з людьми чи тваринами, не включає збирання персональних даних і не потребує інформованої згоди. Відповідно, отримання спеціального етичного висновку для такого типу дослідження не вимагалося. Відбір зразків проводився з дотриманням чинних санітарних і біобезпекових норм.

Ethical Statement. This study is an analysis of water, wastewater, and recycled bioresource samples. It does not involve direct interaction with humans or animals, does not include the collection of personal data, and does not require informed consent. Accordingly, formal ethical approval was not required for this type of research. Sample collection was carried out in compliance with current sanitary and biosafety regulations.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів. Спонсори не брали участі в розробленні дослідження; у зборі, аналізі чи інтерпретації даних; у написанні рукопису; в рішенні про публікацію результатів.

The authors declare no conflicts of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.