

А. Ставнийчук, асп.,
А. Савчук, д-р биол. наук
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Киев, Украина,
Абдул Хе Хан, д-р биол. наук,
Войцех К. Янкевич, асп.,
Джон Д. Имиг, д-р биол. наук,
Медицинский колледж штата Висконсин, Милуоки, Висконсин, США

СОРАФЕНИБ-ИНДУЦИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ КЛУБОЧКОВОЙ БОЛЕЗНИ ПОЧЕК

Повреждение клубочков и протеинурия являются важными патофизиологическими признаками хронического заболевания почек. В статье представлены данные, полученные с использованием модели, разработанной на основе применения антиракового препарата сорафениб. Сорафениб – ингибитор тирозинкиназы, который действует через сигнальный путь, связанный с сосудистым эндотелиальным фактором роста и широко используется для лечения различных видов рака. С другой стороны, сорафениб вызывает серьезные побочные эффекты у пациентов, включая развитие хронического заболевания почек. Данное исследование было направлено на использование нефротоксических свойств сорафениба для моделирования хронического заболевания почек у крыс. Показано, что у крыс, получавших сорафениб в течение 8 недель вместе с диетой с высоким содержанием соли (8 % NaCl), развивается гипертония с повышенным систолическим артериальным давлением на 80 мм рт. ст., протеинурия с увеличением содержания белка на 75 %, и 4-кратным увеличением гломерулярного повреждения по сравнению с контрольной группой. При повреждении почечных клубочков, вызванных сорафенибом, значительно понижается уровень транскриптов, участвующих в синтезе таких ключевых гломерулярных белков, как нефрин, подоцин, синаптоподин и подоплазин. Также при исследовании этой модели наблюдается активация эндотелиально-мезенхимального перехода. В группе крыс, получивших сорафениб, уровень мРНК для маркера эндотелиальных клеток WT-1 был снижен на 20 % и одновременно содержание маркеров мезенхимальных клеток Col III, FSP-1, α -SMA и виментина увеличивалась в 2–3 раза. Таким образом, мы разработали преคลินิกую модель хронического заболевания почек, проявляющуюся в повреждении почечных клубочков. Мы также продемонстрировали, что повреждение клубочков в этой модели связано со снижением экспрессии ключевых структурных гломерулярных белков и активацией эндотелиально-мезенхимального перехода почек.

Ключевые слова: сорафениб, фактор роста эндотелия сосудов, повреждения клубочков.

УДК 579.64:633.11
DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.31-36

С. Гудзь, асп.,
Л. Сквіва, д-р биол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ОСОБЛИВОСТИ ФОРМУВАННЯ ЕУБАКТЕРІАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ РИЗОСФЕРИ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ (*TRITICUM DURUM*) ЗА РІЗНИХ СИСТЕМ УДОБРЕННЯ

Досліджено кількісний, якісний склад і таксономічну структуру еубактеріального комплексу у ризосфері пшениці озимої при застосуванні різних систем удобрення. Мікробіологічними методами визначали вміст у ризосфері пшениці озимої мікроорганізмів, а молекулярними – таксономічну структуру та метабіомеубактеріальний комплекс мікроорганізмів. Встановлено, що на варіантах біологічної системи удобрення пшениці озимої зростала частка мікроорганізмів родини *Proteobacteria* до 80,3 %, а чисельність представників *Actinobacteria* зменшувалась до 12,4 %, аналогічні показники зростання були помічені і на варіанті екологічної системи удобрення. Аналіз родин ґрунтової мікробіоти показав, що на посівах пшениці озимої за застосування різних варіантів удобрення домінуючими є представники *Alcaligenaceae* та *Pseudomonadaceae*. За промислової системи удобрення частка представників родини *Alcaligenaceae* була найвищою, за застосування біологічної та екологічної систем – знижувалась одночасно зі зростанням частки представників родини *Pseudomonadaceae*. Застосування органічних добрив, порівняно з мінеральними, сприяло формуванню різноманіття бактерій. Найбільше значення індексу Шеннона було за біологічної системи удобрення – 4,82.

Встановлено, що застосування біологічної системи удобрення супроводжувалося збільшенням видового різноманіття ґрунтової мікробіоти за рахунок філ *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, використання екологічної системи удобрення – за рахунок представників *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*. Абсолютними домінантами в дослідженій ґрунтовій мікробіоті, незалежно від застосованої системи удобрення, були представники бактеріальних філ *Proteobacteria* – 79,1 % та *Actinobacteria* – 14,0 %.

Ключові слова: ґрунтова мікробіота, системи удобрення, метабіом, піросеквенування, ризосфера.

Вступ. Мікроорганізми ґрунту є головними факторами впливу на мінералізацію, синтез і накопичення органічної речовини в агроценозах усіх без винятку сільськогосподарських культур [1]. Збалансованість мікробіоти ґрунту визначає, передусім, підтримання екологічної рівноваги та збереження ґрунтових агроєкосистем [2]. Дослідження вітчизняних учених доводять: різноманіття мікроорганізмів ґрунту, їхня структурна організація та чисельність є головними факторами, що визначають особливості формування ґрунту, його структурних елементів і родючості [3]. Як наслідок – різні ґрунти характеризуються відмінностями у видовому різноманітті мікроорганізмів. Кількість функціонуючих у ґрунті мікробних популяцій, що мають приналежність до різних видів, може свідчити про різноманіття ґрунтової біоти та спрямованість перебігу мікробіологічних процесів у ньому [4, 5].

Важливим питанням вивчення ґрунтової мікробіоти залишається ідентифікація видів які є домінантними, адже переважання певних мікроорганізмів – визначальний показник для характеристики типу агроєкосистеми [6]. Варто окремо зауважити, що різноманіття ґрунтових

мікроорганізмів визначає гомеостаз агроценозу та певною мірою нівелює вплив антропогенного навантаження. Система, що перебуває під тиском антропогенного навантаження, зі свого боку, реагує за рахунок перерозподілу домінантних видів мікроорганізмів, що може бути індикативним показником екологічного стану ґрунту [7].

Класичні методи вивчення мікробіоти ґрунту мають свої обмеження та дозволяють ідентифікувати лише мікроорганізми, здатні рости на відповідних селективних середовищах. За різними підрахунками такі мікроорганізми становлять від 0,1 до 10 % загального різноманіття мікроорганізмів ґрунту [8, 9].

Застосування молекулярно-біологічних методів для вивчення комплексу мікроорганізмів ґрунту дозволяє визначити закономірності перебігу мікробіологічних процесів у багатокомпонентних екосистемах, незалежно від можливості культивування окремих видів мікроорганізмів [10]. Такий аналіз дозволяє доволі точно ідентифікувати, окрім головних, і міnorні філи мікробіоти, зокрема: *OD1*, *TM7*, *Thermi*, *WS3*, *WYO* та визначити кількісні показники поширеності певних таксонів [11].

Мета дослідження – визначення кількісного, якісного складу і таксономічної структури еубактеріального комплексу в ризосфері пшениці озимої при застосуванні різних систем удобрення.

Методика проведення досліджень. Дослідження еубактеріального комплексу ризосфери пшениці озимої (*Triticum durum*) проводили впродовж 2016–2019 рр. на Білоцерківській дослідно-селекційній станції Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України (БЦДСС), що розташована в Центральному Лісостепу України, у зоні нестійкого зволоження.

Схемою досліду передбачалося застосування різних систем удобрення культур короткоротаційної сівозміни. Як контрольний варіант застосовували промислову систему удобрення, що передбачає пріоритет застосування промислових добрив (переважно мінеральних). В екологічній системі удобрення використовували збалансоване поєднання мінеральних та органічних добрив в екологічно регламентованих нормах, за застосування біологічної системи для удобрення використовували лише сучасні органічні добрива, рослинні рештки та гумати (табл. 1).

Таблиця 1. Система удобрення пшениці озимої в короткоротаційній сівозміні

№ з/п	Варіант системи удобрення	Основне удобрення	Передпосівне удобрення	Удобрення по вегетації
1	Біологічна	поживні рештки сої (2–3 т/га) + Біогумус (вермикомпост) "ЕКОЧУДО" 500 кг/га	обробка насіння біодобривом Вермісол 10 л/т	Квантум – ГУМАТ, 0,7 л/га
2	Екологічна	поживні рештки сої (2–3 т/га) + N ₂₂ P ₂₂ K ₂₂	обробка насіння біодобривом Вермісол 10 л/т + під культивування N ₈ P ₈ K ₈	підживлення весною N _{16,5}
3	Промислова	N ₄₄ P ₄₄ K ₄₄	під культивування N ₁₆ P ₁₆ K ₁₆	підживлення весною N ₃₃

Для оцінки стану ґрунтової мікробіоти та перебігу основних мікробіологічних процесів використовували загальноприйняті у ґрунтовій мікробіології методи [12, 13].

Для мікробіологічних аналізів відбирали по 10 г ґрунту з кожного варіанту досліду, досліди проводили у трьох повторях. Наважки переміщували у стерильні ступки і диспергували мікроорганізми методом Д. Звягінцева.

Чисельність мікроорганізмів визначали методом висівання ґрунтової суспензії на агаризоване поживне середовище ГПА. Встановлення структури мікроорганізмів та їхнього якісного складу проводили за морфолого-культуральними властивостями за допомогою мікроскопіювання фіксованих препаратів [14].

Різноманіття мікробіоти ґрунту визначали за індексами різноманіття Шеннона та Сімсонаї насиченості Chaol (порівняння прогнозованої кількості операційних таксономічних одиниць (ОТО) за параметрів вибірки з кількістю експериментально виявлених у зразках) [15].

Для проведення аналізу таксономічної структури та метабеному виділяли нуклеїнові кислоти із мікроорганізмів ґрунту. Для аналізу використовували метод піросеквенування з такими етапами роботи: створення бібліотеки із флуоресцентними праймерами, подвійна очистка

ПЛР-продукту, піросеквенування, аналіз нуклеотидних послідовностей, визначення таксономічної структури та їхній порівняльний аналіз [16].

Обробку результатів досліджень виконували в комп'ютерних програмах Excel та Statistica – 10.0 [17].

Результати досліджень та їхнє обговорення.

Проведені дослідження з вивчення особливостей формування еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої показали, що на всіх без винятку варіантах удобрення ідентифіковано представників філ: *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Armatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Elusimicrobia*, *Fibrobacteres*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Thermi*, *Verrucomicrobia*, а також архейних філ: *Euryarchaeota* та *Crenarchaeota*.

Якщо аналізувати в середньому представленість ідентифікованих філ, то їхня чисельність була доволі різною, а найпоширенішими були такі: *Proteobacteria* – 79,1 %; *Actinobacteria* – 14,0; *Gemmatimonadetes* – 1,7; *Chloroflexi* – 1,5; *Acidobacteria* – 1,1; *Firmicutes* – 0,8; *Planctomycetes* – 0,3; *Verrucomicrobia* – 0,6; *Bacteroidetes* – 0,4 %, а частка інших філ становила 0,5 % (рис. 1).

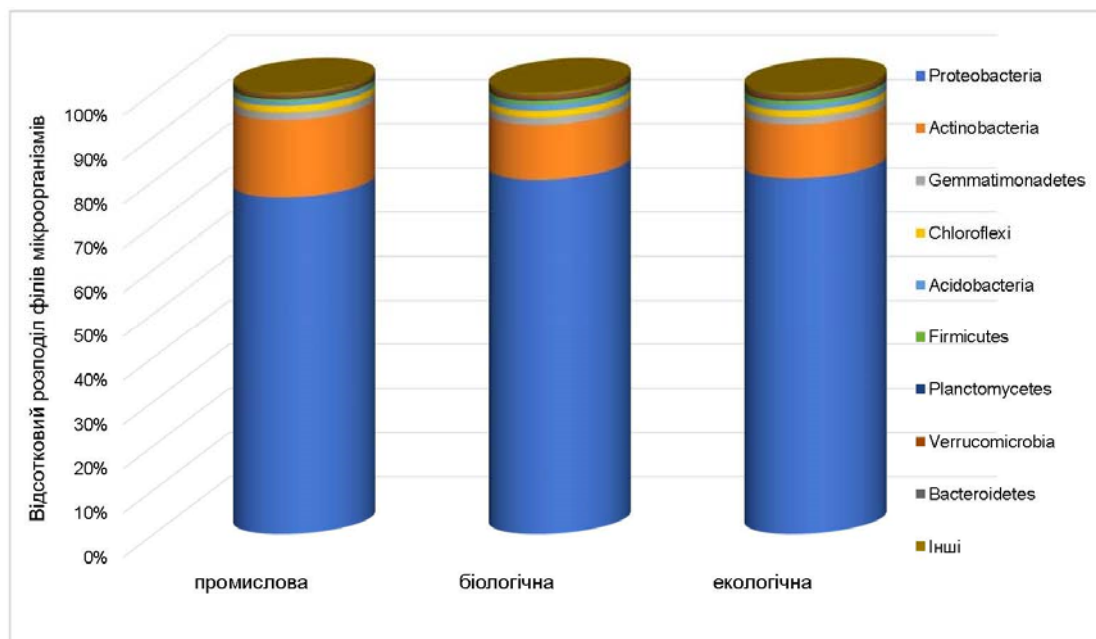


Рис. 1. Розподіл основних бактеріальних філ мікробного комплексу ризосфери пшениці озимої за різних систем удобрення

Застосування різних систем удобрення не впливало на якісний склад мікробіоти ґрунту, але відображалось зміною кількісних характеристики представників різних філ. Серед великих філ на варіантах біологічної системи удобрення, наприклад, зростала частка *Proteobacteria* до 80,3 %, а чисельність представників *Actinobacteria* зменшувалася до 12,4 % порівняно з контрольним варіантом, для якого ці показники становили 76,3 та 17,5 %, відповідно. Аналогічні результати зростання були відмічені нами і на варіанті екологічної системи удобрення.

Отримані дані узгоджуються з результатами дослідження М. Патики, С. Танчика та О. Колодяжного [2].

Вивчення метагеному прокариот ризосфери пшениці озимої за різних варіантів удобрення засвідчує домінування таких порядків, як *Burkholderiales* та *Pseudomonadales*. Відмінності у структурі домінуючих порядків залежно від системи удобрення пшениці озимої наведено на рис. 2.

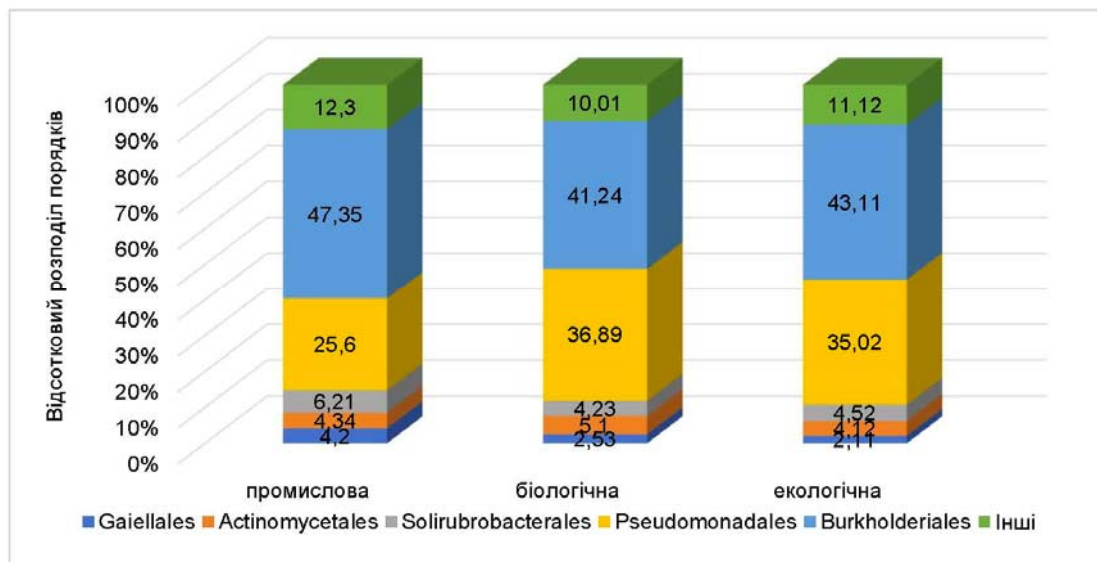


Рис. 2. Структура домінуючих порядків прокариот ризосфери пшениці озимої за різних систем удобрення

Застосування біологічної та екологічної систем удобрення сприяло зростанню чисельності представників порядку *Pseudomonadales* до 36,89 та 35,02 % одночасно

зі зниженням чисельності представників порядку *Burkholderiales* до 41,24 та 43,11 %.

Відмінності у структурі субдомінуючих порядків залежно від системи удобрення пшениці озимої наведено на рис. 3.

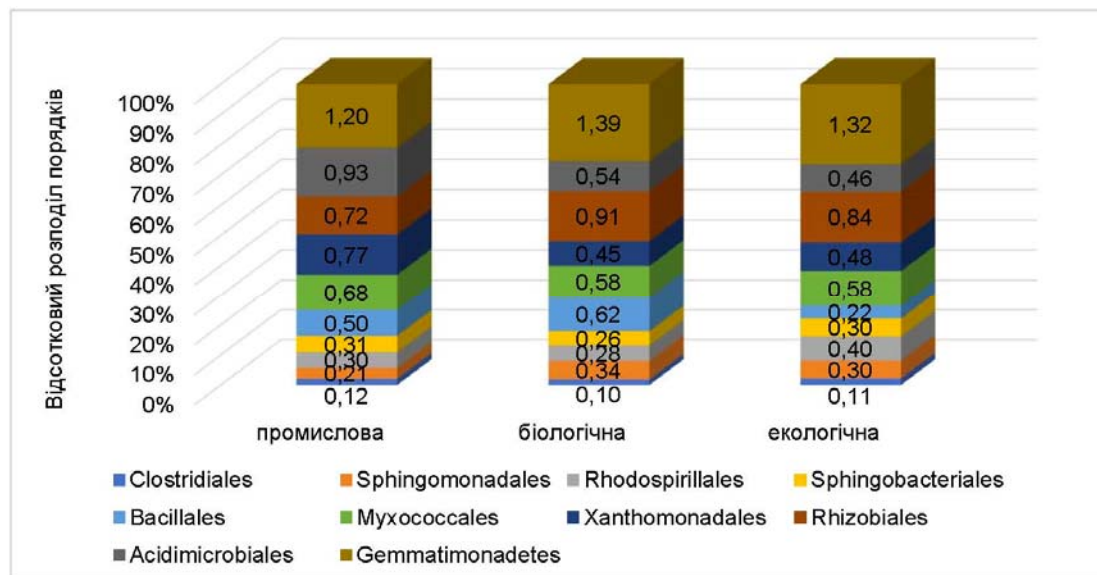


Рис. 3. Структура субдомінуючих порядків прокариот ризосфери пшениці озимої за різних систем удобрення

Найбільша чисельність серед субдомінуючих порядків була зареєстрована для представників *Gemmatimonadetes*. Встановлено, що за умови використання біологічної та екологічної систем удобрення чисельність представників зазначеного порядку зростала до 1,39 та 1,32 %, відповідно.

З'ясовано, що за використання промислової системи удобрення пшениці озимої порівняно з біологічною та

екологічними системами частка представників порядку *Acidimicrobiales*, *Myxococcales*, *Xanthomonadales* у структурі ґрунтової мікробіоти була вищою. Застосування екологічної та біологічної систем удобрення сприяло зростанню чисельності представників порядку *Rhizobiales*.

Результати вивчення поширеності родин еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої наведено в табл. 2.

Таблиця 2. Поширеність родин еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої, %

Родина	Промислова	Біологічна	Екологічна
<i>Alcaligenaceae</i>	45,87	38,08	41,01
<i>Pseudomonadaceae</i>	24,66	36,63	34,88
<i>Comamonadaceae</i>	0,18	0,34	0,25
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,24	0,41	0,18
<i>Gaiellaceae</i>	4,07	2,34	1,95
<i>Geodermatophilaceae</i>	0,35	0,53	0,37
<i>Intrasporangiaceae</i>	0,35	0,47	0,30
<i>Micrococcaceae</i>	1,05	1,04	0,96
<i>Nitrososphaeraceae</i>	0,89	1,17	1,17
<i>Nocardiodaceae</i>	1,07	1,14	0,76
<i>Rhodobiaceae</i>	0,31	0,27	0,39
<i>Sinobacteraceae</i>	0,21	0,15	0,08
<i>Solirubrobacteraceae</i>	6,21	3,89	4,26
<i>Streptomycetaceae</i>	0,70	0,66	0,63
<i>Xanthomonadaceae</i>	0,71	0,41	0,45
Інші	13,12	12,46	12,37

Встановлено, що на посівах пшениці озимої за застосування різних варіантів удобрення домінуючими виявились такі родини, як *Alcaligenaceae* та *Pseudomonadaceae*. Причому за промислової системи удобрення частка представників родини *Alcaligenaceae* була найвищою, а за застосування біологічної та екологічної систем знижувалась, тоді як частка представників родини *Pseudomonadaceae*, навпаки, зростала.

Окрім того, за застосування промислової системи удобрення пшениці озимої представники родин *Gaiellaceae* та *Solirubrobacteraceae* були максимально поширені, тоді як за біологічної та екологічної систем удобрення їхня частка знижувалась.

Загалом у межах родин еубактеріального комплексу такі порядки, як *Clostridiales*, *Sphingomonadales*,

Rhodospirillales, *Sphingobacteriales*, *Bacillales*, *Myxococcales*, *Acidimicrobiales* та *Gemmatimonadetes* були представлені різними родами, тому поширеність представників родин була меншою, ніж сукупна поширеність представників порядків.

З'ясовано, що за біологічної та екологічної систем удобрення відбувалося зниження чисельності представників *Sinobacteraceae*, *Streptomycetaceae* та *Xanthomonadaceae* і зростання кількості представників родин *Comamonadaceae* та *Nitrososphaeraceae*.

За результатами проведених досліджень вираховано індекси різноманіття еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої (табл. 3)

Таблиця 3. Різноманіття еубактеріального комплексу за різних систем удобрення пшениці озимої

Система удобрення	Кількість ОТО	Індекс Chaol	Індекс Шеннона	Індекс Сімсона
Промислова	274	1123,04	3,90	0,83
Біологічна	342	1275,63	4,82	0,88
Екологічна	321	1207,05	4,75	0,85

Встановлено, що індекс насиченості Chaol був більшим від чисельності ідентифікованих операційних таксономічних одиниць (ОТО) та залежно від варіанту дослідження перевищував цей показник від 3,7 до 4,1 разів. Такі розбіжності між індексом Chaol та ОТО засвідчують реально більші рівні біорізноманіття еубактеріального комплексу порівняно з ідентифікованим метабеномом.

Існує думка, що індекс Шеннона надає більшого значення рідкісним видам [6]. У наших дослідженнях встановлено, що найбільше різноманіття прокариотів за індексом Шеннона було за біологічної системи удобрення – 4,82, а найменше – за промислового варіанту удобрення пшениці озимої. Отже, застосування органічних добрив, порівняно з мінеральними, сприяло формуванню різноманіття бактерій.

Висновки. Проведені дослідження показали, що основу еубактеріального комплексу озимої пшениці формували представники філі *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Armatimonadetes*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Chlorobi*, *Chloroflexi*, *Cyanobacteria*, *Elusimicrobia*, *Fibrobacteres*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Nitrospirae*, *Planctomycetes*, *Proteobacteria*, *Thermi*, *Verrucomicrobia*, а також архейних таких філі: *Euryarchaeota* та *Crenarchaeota*. Абсолютними домінантами були представники бактеріальних філі. *Proteobacteria* – 79,1 %, *Actinobacteria* – 14,0 %. Застосування молекулярних методів аналізу дозволило визначити, що в агроценозі пшениці озимої за різних систем удобрення переважне поширення мали представники родин

Alcaligenaceae, *Pseudomonadaceae*, *Comamonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Gaiellaceae*, *Geodermatophilaceae*, *Intrasporangiaceae*, *Micrococcaceae*, *Nitrososphaeraceae*, *Nocardiodaceae*, *Rhodobiaceae*, *Sinobacteraceae*, *Solirubrobacteraceae*, *Streptomycetaceae*, *Xanthomonadaceae*.

Застосування біологічної системи удобрення супроводжується збільшенням видового різноманіття мікробіоти ґрунту за рахунок філі *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, а застосування екологічної системи удобрення – за рахунок таких філі, як *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* та *Proteobacteria*.

Список використаних джерел:

- Оцінка метабеному у прокариотного комплексу чорнозему за аграрного використання / М. В. Патица, О. Л. Тонха, Т. І. Патица та ін. // Мікробіологічний журнал. – 2018. – Т. 80, № 6. – С. 109–122.
- Патица М. В. Формування біорізноманіття та філотипової структури еубактеріального комплексу чорнозему типового при вирощуванні пшениці озимої / М. В. Патица, С. П. Танчик, О. Ю. Колодязний // Доповіді НАН України. – 2012. – № 11. – С. 163–171.
- Патица Н. В. Агробіологія мікроорганізмів: різноманітність, структурна організація і функціональні особливості / Н. В. Патица, В. Ф. Патица // Імунологія та алергологія: наука і практика. – 2014. – Дод. № 1. – С. 77–78.
- Nannipieri P. Microbial diversity and soil functions / P. Nannipieri, J. Ascher, M. Ceccherini // European Journal of Soil Science. – 2003. – Vol. 54, № 4. – P. 655–670.
- Impact of herbicides on soil biology and function / M. T. Rose, T. R. Cavagnaro, C. A. Scanlan et al. // Advances in Agronomy. – 2016. – Vol. 136. – P. 133–220.
- Дем'янюк О. С. Сучасні методичні підходи до оцінювання екологічного стану ґрунту за активністю мікробіоценозу / О. С. Дем'янюк,

Л. Ю. Симочко, О. В. Тертична // Питання біоіндикації та екології. – 2017. – Вип. 22, № 1. – С. 55–68.

7. Interaction of chiral herbicides with soil microorganisms, algae and vascular plants / M. Asad, U. Asad, M. Lavoie et al. // Science of The Total Environment. – 2017. – № 580. – P. 1287–1299.

8. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA / W. Liu, T. Marsh, H. Cheng, L. Forney // Environ. Microbiol. – 1997. – № 63. – P. 4516–4522.

9. Imfeld G. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: A critical review. / G. Imfeld, S. Vuilleumier // European Journal of Soil Biology. – 2012. – № 49. – P. 22–30.

10. Felske A. Response of a soil bacterial community to grassland succession as monitored by 16S rRNA levels of the predominant ribotypes / A. Felske, A. Wolterink, R. Van Lis // Applied and Environmental Microbiology. – 2000. – № 66. – P. 3998–4003.

11. Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms / J. Handelsman // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2004. – Vol. 68, № 4. – P. 669–685.

12. Люта В. А. Практикум з мікробіології: навч. посіб. (ВНЗ I–III р. а.) / В. А. Люта, О. В. Кононов. – К.: "Медицина", 2018. – 184 с.

13. Іутинська Г. О. Мікробіотехнології для реалізації нової глобальної програми забезпечення сталого розвитку агросфери України / Г. О. Іутинська // Агроекологічний журнал. – 2017. – № 2. – С. 149–155.

14. Чурикова В. В. Морфологія і культивування мікроорганізмів: малий практикум по мікробіології / В. В. Чурикова, М. Ю. Грабович. – Воронеж: Воронежський гос. ун-т, 2003. – 55 с.

15. Kuczyński J. Using QIIME to analyze 16S rRNA gene sequences from Microbial Communities [Electronic source] / J. Kuczyński, J. Stombaugh, W. Anton Walters // CurrProtoc Bioinformatics. – 2012. – Access mode : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249058>.

16. Ronaghi M. Pyrosequencing: a tool for DNA sequencing analysis / M. Ronaghi // Methods of Molecular Biology. – 2004. – Vol. 255. – P. 211–219.

17. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних в пакеті Statistica 10.0 : метод. вказівки / О. І. Присяжнюк, Г. М. Каражбей, Н. В. Лещук та ін. – К.: "Нілан-ЛТД", 2016. – 54 с.

References:

1. Patyka M. V., Tonkha O. L., Patyka T. I. et al. Estimation of methagen of prokaryotic chemozem complex in agricultural use. Microbiological Journal, 2018, T. 80, № 6. P. 109–122.

2. Patyka M. V., Tanchyk S. P., Kolodiaznyh O. Yu. Formation of biodiversity and phylotypic structure of eubacterial complex of typical chemozem in winter wheat cultivation. Reports of the NAS of Ukraine. 2012. № 11. P. 163–171.

3. Patyka N. V., Patyka V. F. Agrobiology of microorganisms: diversity, structural organization and functional features. Immunology and allergology: science and practice. 2014. 1. P. 77–78.

4. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M. Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science. 2003. Vol. 54, № 4. P. 655–670.

5. Rose M. T., Cavagnaro T. R., Scanlan C. A. et al. Impact of herbicides on soil biology and function. et al. Advances in Agronomy. 2016. Vol. 136. P. 133–220.

6. Demyanyuk O. S., Symochko L. Yu., Tertychna O. V. Modern methodical approaches to evaluation the ecological condition of soil by microbial activity. Problems of Bioindications and Ecology. 2017. 22(1). P. 55–68.

7. Asad M., Asad U., Lavoie M. et al. Interaction of chiral herbicides with soil microorganisms, algae and vascular plants. Science of The Total Environment. 2017. № 580. P. 1287–1299.

8. Liu W., Marsh T., Cheng H., Forney L. Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. Environ. Microbiol. 1997; 63: 4516–4522.

9. Imfeld G., Vuilleumier S. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: A critical review. European Journal of Soil Biology. 2012. 49. P. 22–30.

10. Felske A., Wolterink A., Van Lis R. Response of a soil bacterial community to grassland succession as monitored by 16S rRNA levels of the predominant ribotypes. Applied and Environmental Microbiology. 2000; 66:3998–4003.

11. Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2004. Vol. 68, № 4. P. 669–685.

12. Liuta V. A., Kononov O. V. Workshop on Microbiology: Textbook (Higher Education Institutes I–III RA). K.: "Medicine", 2018. 184 p.

13. Iutynska H. O. Microbial biotechnology for the implementation of the new global program for sustainable development of the Ukrainian agrosphere. Agroecological Journal. 2017. № 2. P. 149–155.

14. Churikova V. V., Grabovich M. Ju. Morphology and cultivation of microorganisms: small workshop on microbiology. Voronezh: Voronezh State University, 2003. 55 p.

15. Kuczyński J., Stombaugh J., Anton Walters W. Using QIIME to analyze 16S rRNA gene sequences from Microbial Communities. CurrProtoc Bioinformatics. 2012. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249058>.

16. Ronaghi M. Pyrosequencing: a tool for DNA sequencing analysis. Methods of Molecular Biology. 2004. Vol. 255. P. 211–219.

17. Prisyazhniuk O. I., Karazhbei H. M., Leshchuk N. V. et al. Statistical analysis of agronomic research data package Statistica 10. Guidelines. Kyiv: Nilan-Ltd. 2016. 54 p.

Надійшла до редколегії 04.05.2020

Отримано виправлений варіант 05.06.2020

Підписано до друку 05.06.2020

Received in the editorial 04.05.2020

Received a revised version on 05.06.2020

Signed in the press on 05.06.2020

С. Гудзь, асп.,

Л. Сквіва, д-р біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭУБАКТЕРИАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА РИЗОСФЕРЫ ПШЕНИЦЫ ОЗИМОЙ (*TRITICUM DURUM*) ПРИ РАЗНЫХ СИСТЕМАХ УДОБРЕНИЯ

Исследовано количественный, качественный состав и таксономическую структуру эубактериального комплекса в ризосфере пшеницы озимой при применении различных систем удобрения. Микробиологическими методами определяли содержание в ризосфере пшеницы озимой микроорганизмов, а молекулярными – таксономическую структуру и метагеном эубактериальный комплекс микроорганизмов. Установлено, что среди крупных фил на вариантах биологической системы удобрения озимой пшеницы возросла доля *Proteobacteria* до 80,3 %, а численность *Actinobacteria* уменьшилась до 12,4 % по данным на контрольном варианте 76,3 и 17,5 %, аналогичные показатели роста были отмечены и на варианте экологической системы удобрения. Анализ семейств показывает, что на посевах озимой пшеницы при применении различных вариантов удобрения доминирующими оказались такие семейства, как *Alcaligenaceae* и *Pseudomonadaceae*. При применении промышленной системы удобрения доля семейства *Alcaligenaceae* была наиболее высокой, а вот при применении биологической и экологической систем – снижалась, в то время как распространенность семейства *Pseudomonadaceae* наоборот – росла. Применение органических удобрений, по сравнению с минеральными, способствовало формированию многообразия бактерий. Например, больше разнообразия прокариот по индексу Шеннона наблюдалось при биологической системе удобрения – 4,82, а меньше – при промышленном варианте удобрения озимой пшеницы. Установлено, что на варианте биологической системы удобрения увеличение видового разнообразия происходило за счет фил *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia*, а при экологической системе удобрения – за счет таких фил, как: *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* и *Proteobacteria*. Абсолютными доминантами были представители бактериальных фил *Proteobacteria* – 79,1 %, *Actinobacteria* – 14,0 %.

Ключевые слова: прокариоты, микроорганизмы, метагеном, пироквенирование, многообразие, ризосфера.

S. Hudz, Ph. D. stud.,

Skivka, Dr. Sc.

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

PECULIARITIES OF FORMATION OF THE EUBACTERIAL COMPLEX OF WINTER WHEAT RHYSOPHERE (*TRITICUM DURUM*) BY DIFFERENT FERTILIZATION SYSTEMS

The of the study was to determine the quantitative, qualitative composition and taxonomic structure of the eubacterial complex in the rhizosphere of winter wheat using different fertilizer systems. Methods. Microbiological methods were used to determine the content of winter microorganisms in the wheat rhizosphere, and molecular taxonomic structure and methane of the eubacterial complex of microorganisms were determined. Results. It was found that among large phyla on the variants of the biological system of winter wheat fertilizer the share of *Proteobacteria* increased to 80,3 %, and the number of *Actinobacteria* decreased to 12.4% according to the control variant 76,3 and 17,5 %, also similar growth rates were marked on the variant of the ecological fertilizer system. The analysis of families shows that such families as *Alcaligenaceae* and *Pseudomonadaceae* were dominant in winter wheat crops with the use of different fertilizer variants. Under the industrial fertilizer system, the share of the family *Alcaligenaceae* was the highest, but with the application of biological and ecological systems it decreased, while the prevalence of the family *Pseudomonadaceae* on the

contrary – increased. The use of organic fertilizers, compared with mineral, contributed to the formation of a variety of bacteria, so the greatest diversity of prokaryotes according to the Shannon index was in the biological fertilizer system – 4,82, and the least – in the industrial version of winter wheat fertilizer. Conclusions. It was found that in the variant of the biological fertilization system the increase of species diversity was due to the following phyla: Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Proteobacteria, Verrucomicrobia, and in the ecological fertilization system due to such phyla as: Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes and Proteobac. In general, according to the experiment, the absolute dominants were representatives of bacterial phyla Proteobacteria – 79,1 %, Actinobacteria – 14,0 %.

Keywords: prokaryotes, microorganisms, metagenome, pyrosequencing, diversity, rhizosphere.

УДК 578.864.3/856.1/862.1

DOI 10.17721/1728_2748.2020.81.36-42

Р. Совінська, асп.,
А. Дуніч, канд. біол. наук,
Л. Міщенко, д-р біол. наук

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

УРАЖЕНІСТЬ РОСЛИН ГЛАДІОЛУСІВ ВІРУСОМ ЖОВТОЇ МОЗАЇКИ КВАСОЛІ, ВІРУСОМ ОГІРКОВОЇ МОЗАЇКИ ТА ВІРУСОМ КІЛЬЦЕВОЇ ПЛЯМИСТОСТІ ТЮТЮНУ НА ТЕРИТОРІЇ ДЕЯКИХ ПІВНІЧНИХ І ЦЕНТРАЛЬНИХ ОБЛАСТЕЙ УКРАЇНИ

Гладіолуси можуть уражуватися 15 видами вірусів, що завдають суттєвих економічних втрат як квітникарській галузі, так і сільському господарству. Найбільш поширеними і шкодочинними на гладіолусах є Bean yellow mosaic virus (BYMV) та Cucumber mosaic virus (CMV), що циркулюють на території України на овочевих, бобових та інших культурах, а також Tobacco ringspot virus (TRSV), що входить до Переліку регульованих шкідливих організмів України та підлягає суворому контролю.

Проведено тестування рослин гладіолусів на наявність симптомів вірусного ураження та здійснено їхнє тестування на ураженість найбільш поширеними і небезпечними вірусами, а саме: BYMV, CMV, TRSV. Для цього було застосовано метод візуальної діагностики, імуноферментний аналіз у модифікації DAS-ELISA, метод трансмісійної електронної мікроскопії, статистичні методи обробки даних. Результати досліджень показали відсутність TRSV у всіх досліджуваних зразках. Уперше в Україні встановлено, що гладіолуси уражуються вірусом жовтої мозаїки квасолі (ВЖМК). Його циркуляція на рослинах гладіолуса зареєстрована в Полтавській, Київській та Сумській обл. Виявлено, що гладіолуси також уражені CMV або змішаною інфекцією цих патогенів. Ураженість гладіолусів BYMV і CMV у Київській обл. становить 88,2 і 93,8 %, у Полтавській – 69,2 і 55,5 %, у Сумській – 66,6 і 0 %, відповідно. Характерними симптомами на рослинах гладіолусів, що спричиняють ізоляти CMV і BYMV, є хлоротична штрихувата мозаїка на листках і зміна кольору квіток, рідше – крапчастість на листках і затримка росту рослин. Виявлено, що захворювання гладіолусів, викликане CMV і BYMV, може мати безсимптомний перебіг. Різноманітність, характер і перебіг вірусних інфекцій у рослин гладіолусів демонструє актуальність подальшого дослідження та їхнього моніторингу в Україні.

Ключові слова: гладіолус, вірус жовтої мозаїки квасолі, вірус огіркової мозаїки, вірус кільцевої плямистості тютюну, конфекція.

Вступ. Гладіолуси – популярні бульбоцибулинні рослини в ландшафтних композиціях, їх також вирощують задля красивих квітів, букетів, квіткових кошиків на продаж. Успішного поширення на всіх континентах ці представники родини Iridaceae досягнули завдяки своїм декоративним властивостям і відносно простій методиці виведення нових сортів. Нині у світі існує понад 5000 сортів гладіолусів, основні гібридні групи яких отримані шляхом схрещування чотирьох або п'яти видів роду *Gladiolus* з подальшим добром: 'Grandiflorus', 'Primulines' та 'Nanus' [30]. Через особливості розмноження гладіолусів наявність інфікованого рослинного матеріалу призводить до передавання вірусних патогенів із покоління в покоління, вирощування сортів і створення складнощів у селекційному добрі, а з посадковим матеріалом (бульбоцибулинами) віруси поширюються на нові території.

За даними світової наукової літератури рослини гладіолусів уражують 15 видів вірусів. Tomato aspermy virus (TAV) і tobacco rattle virus (TRV) ідентифіковані в Європі, а також Ізраїлі, Єгипті, Індії [25, 31, 37]. Ornithogalum mosaic virus (OrMV) та tomato ringspot virus (ToRSV) виявлені та території Сполучених Штатів Америки, Південної Кореї та Ірану [14, 19]. У Польщі в насадженнях гладіолусів був детектований tomato black ring virus (TBRV) [22]. На територіях Австралії, Сполучених Штатів Америки та Європи ідентифіковано tomato spotted wilt virus (TSWV) [16, 20, 21]. Tobacco necrosis virus (TNV) та tobacco ringspot virus (TRSV) був виявлений на гладіолусах у Литві [32]. В Італії та Ірані було виявлено arabis mosaic virus (ArMV) [11, 19]. Tobacco mosaic virus (TMV), tomato ringspot virus (ToRSV) і tobacco ringspot virus

(TRSV) детектовані у рослинах гладіолусів в Японії і Південній Кореї [17, 33]. У ході дослідження насаджень гладіолусів в Італії виявлені strawberry latent ringspot virus (SLRV), TRSV та tobacco streak virus (TSV) [12, 13].

Варто наголосити, що із них TRSV, TRV, а також ВЖМК (bean yellow mosaic virus, BYMV), вірус огіркової мозаїки (cucumber mosaic virus, CMV) [23, 24] уражають широкий спектр рослин, до яких належать й економічно важливі сільськогосподарські культури, а тому становлять особливу небезпеку. TRSV входить до Переліку регульованих шкідливих організмів України та підлягає суворому контролю у країні [9].

Вірус жовтої мозаїки квасолі та вірус огіркової мозаїки найчастіше детектуються у світі в насадженнях гладіолусів. Гладіолуси, інфіковані вірусом огіркової мозаїки, мають симптоми хлоротичної штрихуватості, мозаїки на листках, зміни кольору квітки. Інфікування на пізніх періодах вегетації вірусом огіркової мозаїки проходить у більшості випадків безсимптомно і може виявитись лише у зменшенні кількості квітів у колосі [26]. У насадженнях гладіолусів ВЖМК виявлений на всіх континентах [10, 18, 26, 31, 37, 38]. На рослинах гладіолусів симптоматика виявляється у вигляді темно-зеленої смугастості листків, деформації кольору квітів під дією хвороби. Вірус жовтої мозаїки квасолі також знижує відбруньковування бульбоцибулин гладіолусів на 33 %, інфіковані рослини мають менший період життя й більш чутливі до грибної інфекції [31].

В Україні у рослинах гладіолусів с. Ніжність із симптомами зеленої мозаїки, локальних некрозів та смугастої мозаїки на листках був детектований tomato aspermy virus