

АНАЛІЗ ФОСФОЛІПІДНИХ БІОМАРКЕРІВ ЯК ІНСТРУМЕНТ ДЛЯ ОЦІНКИ СТРУКТУРИ МІКРОБНИХ УГРУПУВАНЬ НА ЗАБРУДНЕНИХ РАДІОНУКЛІДАМИ ТЕРИТОРІЯХ

Ю.В. РУБАН, аспірантка кафедри радіобіології та радіоекології,
Національний університет біоресурсів і природокористування України
E-mail: yuliyaruban24@gmail.com

К.Є. ШАВАНОВА, кандидат біологічних наук
В.В. ІЛЛЕНКО, кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри
радіобіології та радіоекології
Національний університет біоресурсів і природокористування України
К.Д. КОРЕПАНОВА, студентка магістратури, факультету захисту
рослин, біотехнології та екології

Національний університет біоресурсів і природокористування України
Д.О. САМОФАЛОВА, кандидат біологічних наук,
Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України

С.Б. НІКОНОВ

Н.Ф. ШПИРКА, асистент кафедри землеробства та гербології,
Національний університет біоресурсів і природокористування України
Н.Г. НЕСТЕРОВА, кандидат сільськогосподарських наук, кафедри
фізіології, біохімії рослин та біоенергетики,

Національний університет біоресурсів і природокористування України
О.Ю. ПАРЕНЮК, кандидат біологічних наук, старший науковий
співробітник кафедри радіобіології та радіоекології,
Національний університет біоресурсів і природокористування України

Анотація. Наявність у середовищі специфічних та нехарактерних для місцевості компонентів здатне змінювати стан ценозів. Добре дослідженим є вплив іонізуючого випромінювання на рослинні угруповання, тварин та людину, проте його дію на мікрофлору ґрунту вивчено недостатньо. Саме тому у представленій роботі було досліджено вплив радіонуклідного забруднення на мікробну мікрофлору проб ґрунту з території ПТЛРВ «Рудий ліс 1» (траншея), «Рудий ліс 2» (поза траншеєю), «Ставка охолоджувача» та «Залісся». За допомогою аналізу фосфоліпідних біомаркерів було визначено вміст фосфоліпідних жирних кислот (ФЛЖК). Найвищий рівень сукупної ФЛЖК спостерігався на території «Залісся» та склав $17,40 \pm 10,59$ мкг/г. З території

ПТЛРВ «Рудий ліс 1» (траншея) та «Рудий ліс 2» (поза траншеєю) показник рівню сукупної ФЛЖК склав $16,29 \pm 3,43$ мкг/г та $16,40 \pm 2,90$ мкг/г відповідно. Показники ФЛЖК у «Ставку охолоджувачі» значно відрізняються від «Рудого лісу» та «Залісся».

За результатами проведення оцінки відсоткового складу таксономічних груп у зразках було помічено підвищений вміст грибів, грампозитивних та грамнегативних бактерій у ПТЛРВ «Рудий ліс» відносно точки «Залісся».

Ключові слова: Біомаркери, радіонукліди, зона відчуження Чорнобильської АЕС, ФЛЖК, мікроорганізми

Вступ.

На сьогодні дослідження мікробного різноманіття та його функціонування в екосистемах є важливим завданням для покращення оцінки та контролю стану навколишнього середовища. Вплив іонізуючого випромінювання на рослинні угруповання, тварин та людину добре досліджено для розуміння процесів та їх наслідків (Einor et al., 2016; Ivanishvili et al., 2016). Проте його дія на мікрофлору ґрунту залишається недостатньо вивченою (Niedrée et al., 2013). Враховуючи здатність мікроорганізмів пристосовуватися до умов високого радіаційного фону, вивчення змін в їх угрупованнях є перспективним з декількох причин. По-перше, мікроорганізми, як складова мікроценозів, є першопричиною біокорозії споруд, що може призвести до розгерметизації захоронень радіоактивних речовин (Tribollet, 2012). По-друге, за наявності у середовищі специфічних та нехарактерних для місцевості компонентів, стан ценозів здатен змінюватися.

Під час здійснення першочергових заходів з ліквідації аварії на Чорнобильській АЕС (1986-1987 рр.), на території зони відчуження було створено об'єкти для захоронення та локалізації великих обсягів аварійних радіоактивних відходів (РАВ). Наслідком цього стало створення пунктів захоронення радіоактивних відходів (ПЗРВ):

«Буряківка», «Підлісний», «ІІІ черга ЧАЕС» та пунктів тимчасової локалізації радіоактивних відходів (ПТЛРВ). На території зони відчуження розміщено дев'ять ПТЛРВ: «Станція Янів», «Нафтобаза», «Піщане плато», «Рудий ліс», «Стара Будбаза», «Нова Будбаза», «Прип'ять», «Копачі», «Чистогалівка». Оціночна кількість траншей і буртів ПТЛРВ коливається від 800 до 1000, точні місця розташування частини з яких потребують уточнення.

Утворені об'єкти є унікальними за своїм мікробним та компонентним складом і можуть бути перспективними для широкого спектру наукових досліджень. Детальне вивчення впливу радіонуклідного забруднення на довкілля та його зміни під дією фізико-хімічних та біологічних факторів на подібні об'єкти відкриває нові особливості функціонування мікроценозів в середовищах з РАВ.

Сучасні радіобіологічні дослідження мікроценозів не можуть бути повними без залучення нових методів та підходів молекулярно-генетичного аналізу. Враховуючи неповну картину попередніх досліджень впливу природних та антропогенних чинників на мікробні угруповання, слушним є застосування вищевказаних методик.

Розвиток незалежних від лабораторного культивування методів, таких як аналіз фосфоліпідних жирних кис-

лот (PLFA- phospholipid-derived fatty acids) або аналіз ліпідних біомаркерів, відкрив нові горизонти у вивченні мікробних угруповань. Фосфоліпіди – це компоненти клітинних мембран, що становлять відносно малу частину клітини та швидко розкладаються після її загибелі. Таким чином, аналіз фосфоліпідних жирних кислот (ФЛЖК) характеризує життєздатну бактеріальну біомасу (Zelles, 1999).

Перші дані про використання біомаркерного аналізу ФЛЖК опубліковано групою американських вчених Вайтом та інш. в 1979 р., коли його було використано для оцінки мікробної біомаси з морських і естуарних (прибережних) відкладень (White et al., 1979). Цей метод був модифікацією оригінальної процедури вилучення ліпідів з тканин риб. Він започаткував використання мікробних ліпідів в якості біомаркерів для визначення структури мікробного угруповання та метаболічної активності в подальших екологічних дослідженнях (Bligh & Dyer, 1959).

Аналіз ФЛЖК в ґрунті складається з таких етапів: підготовка проб ґрунту, екстракція ліпідів, розділення на нейтральні, гліко- та фосфоліпіди, дериватизація, аналіз та ідентифікація дериватів у вигляді метилових ефірів жирних кислот (FAME - methyl ester fatty acids) фізико-хімічними методами.

Ліпіди вилучаються, як правило, з висушених і ретельно розтертих зразків ґрунту за допомогою органічних розчинників (гексан, бензол, хлороформ, етанол та інші). Найчастіше, для екстракції ліпідів використовується метод Блайя і Дайєра або його модифікації з використанням однофазної екстрагуючої суміші хлороформу, метанолу та деіонізованої води (1:2:0,8 об/об/об) (Bligh & Dyer, 1959). Також, зустрічається використання фосфатно-

го або цитратного буферів замість води (Apostel et al., 2018). Альтернативними методами екстракції ліпідів з ґрунту є використання суміші хлороформу і метанолу (2:1 об/об) (Jeannotte et al., 2011) або дихлорметану і метанолу (3:1; об/об) (Rushdi et al., 2016).

Після екстракції з ґрунтового зразку та видалення розчинника, проводять розділення ліпідів на нейтральні і полярні (гліколіпіди та фосфоліпіди) компоненти, використовуючи колонкову хроматографію та елюенти: хлороформ, ацетон та метанол – поетапно. Наступний етап передбачає отримання етилових ефірів жирних кислот (фематів), придатних для подальшої ідентифікації та кількісної оцінки. Їх отримання здійснюється прямою реакцією естерифікації, або шляхом переестерифікації складних ліпідів в середовищі метилового спирту із застосуванням кислотних (HCl або H₂SO₄ в метанолі або BF₃) або лужних каталізаторів (KOH або NaOH). Вибір каталізатора визначається метою дослідження. Отримані деривати вирифікуються за своєю приналежністю.

Традиційно, аналіз ліпідів відбувається за допомогою газово-рідинної хроматографії (ГРХ) або газової хроматографії-мас-спектрометрії з використанням похідних: фематів або етерів жирних кислот. Для аналізу спектрограм використовують різне програмне забезпечення, яке порівнює спектри ФЛЖК з базою даних мікроорганізмів та повертає оператору «відбиток» (від. англ. «fingerprint» – відбиток пальця) мікробного угруповання.

Загальноприйнятим є порівняння отриманих жирних кислот (ЖК) з таксономічною приналежністю відповідних біомаркерів (Таблиця 1) та аналізом «відбитку» мікробного угруповання.

Таблиця 1. Ліпідні маркери, характерні для представників певних таксонів і функціональних груп біоти

ФЛЖК біомаркери	Таксони та функціональні групи	Походження зразка	Посилання
Нерозгалужені насичені ЖК (14:0-18:0)	Загальний бактеріальний маркер	ЧК, ґрунт	(Zelles, 1997)
Мононенасичені ЖК	Грамнегативні бактерії	ЧК, ґрунт	(Zelles, 1997)
Гідроксо-заміщені ЖК (Карбонові кислоти) 2ОН 12:0; 3ОН 12:0; 2ОН 14:0; 3ОН 14:0; 2ОН 16:0; 2ОН 18:0	Грамнегативні бактерії	ґрунт	(Parker et al., 1982)
Циклопропілові насичені ЖК су17:0; су19:0	Грампозитивні бактерії	ЧК, ґрунт	(Wilkinson, 1988)
Розгалужені ЖК (a13:0; i13:0- a18:0; i18:0)	Грампозитивні бактерії	ЧК, ґрунт	(Vestal & White, 1989)
Метил-розгалужені ЖК 10Me16:0; 10Me17:0; 10Me18:0	Актиноміцети (актино-бактерії)	ЧК, ґрунт	(Vestal & White, 1989)
16:1ω5t; 16:1ω8c; 16:1ω7c	Метанотрофи I типу (гаммапротеобактерії) Methylococcaceae	ЧК, ґрунт	(Nichols et al., 1985)
18:1ω8c; 18:1ω8t; 18:1ω6c	Метанотрофи типу II (альфапротеобактерії) Methylocystaceae	ЧК, ґрунт	(Nichols et al., 1985)
	Гриби	ЧК, ґрунт	(Vestal & White, 1989)
Поліненасичені ЖК 18:2ω6c; 18:3ω6c; 18:2ω9c	Сапротрофні гриби	ЧК, ґрунт	(Stahl & Klug, 1996)
18:3ω3	Гриби	Біоплівка, ЧК, ґрунт	(Zelles, 1997)
16:1ω5c	Арбускулярні гриби мікоризу	Коріння рослин, ґрунт	(Olsson, 1999)
20:2ω6c; 20:3ω6c; 20:4ω6c	Найпростіші	ЧК, ґрунт	(White, 1988)

* Позначення жирних кислот наведені відповідно до номенклатури ІЮПАК: число атомів вуглецю в ланцюзі, число подвійних зв'язків, положення подвійних зв'язків від метильного кінця молекули (ω) префікси: i-, a-, су-, антеізо- та циклічні жирні кислоти; 10 Me – метильна група на 10-му вуглеці від карбоксильного кінця молекули; -c – цис-форма, -t – транс-форма; ЧК – чиста культура.

Мета. Використовуючи метод аналізу фосфоліпідних біомаркерів отримати дані щодо стану мікробного угруповання на територіях з підвищеним рівнем радіонуклідного забруднення.

Матеріали і методи дослідження.

У наших дослідженнях для аналізу були відібрані проби ґрунту з території ПТЛРВ «Рудий ліс 1» (тран-

шея), «Рудий ліс 2» (поза траншеєю) та «Ставка охолоджувача». В якості порівняльної точки були використані проби з забруднених екосистем Чорнобильської зони відчуження «Залісся» (Таблиця 2).

Відбір зразків ґрунту проводився спеціальними пробовідбірними пристроями на глибину до 20 см. Проби, на кожній ділянці, відбирали у 5 точках методом «конверта», з кроком не менше 5 м. Змішаний зразок, загального

Таблиця 2. Координати точок відбору зразків у системі WGS84 (World)

№ з/п	Місце відбору зразків	Координати північної широти	Координати східної довготи
3	Залісся, ліс	51°15'01.9»	30°09'01.5»
6	Рудий ліс траншея	51°23'26.9»	30° 04'15.9»
7	Рудий ліс поза траншеєю	51°22'42.5»	30° 05'07.5»
8	Ставок охолоджувач	51°37'14.8»	30°13'98.9»

об'єму близько 1000 см³, складався з п'яти індивідуальних, відібраних з площі обстежуваного майданчика. Перед початком всіх робіт у лабораторних умовах, ґрунт сушили, ретельно перемішували, просіювали через сито з діаметром отворів 1 мм та зважували.

Питома активність ¹³⁷Cs була визначена експериментально, дані щодо активності ⁹⁰Sr – було одержано із бази даних Українського науково-дослідного інституту сільськогосподарської радіології НУБіП України (V. Kashparov et al., 2012; Valery Kashparov et al., 2018) ¹⁵⁴Eu and soil property data; plutonium isotope activity concentrations in soil (including distribution in the soil profile. Вміст ¹³⁷Cs в попередньо підготовлених пробах ґрунту визначали на високоефективному гамма-спектрометрі «ADCAM-300» з напівпровідниковим детектором із високочистого германію GEM-30185 (виробництво EG&G ORTEC, США) і багатоканальним аналізатором ASPEC-927 і програмним забезпеченням GammaVision 32 («EG & ORTEC», США).

Активність ¹³⁷Cs вимірювали по лінії гамма-випромінювання 661,66 кеВ короткоживучого ^{137m}Ba. Вимірювання проводили в поліетиленових посудинах об'ємом 130 см³ і в посудинах Марінеллі об'ємом 1000 см³. Калібрування спектрометра здійснювалось з використанням сертифікованих еталонних матеріалів відповідно до вимог стандартизованого методу (ISO 18589-3:2007).

Для ФЛЖК аналізу, з кожної точки відбирались три індивідуальних зразки в радіусі одного метра з глибини до 10 см. Верхній шар рослинного покриву знімався перед відбором проб. Відібрані проби зберігались до аналізу при -20°C. Сукупну фракцію ліпідів екстрагували модифікованим методом Блайя-Дайера, розчином метанолу, хлороформу та цитрату / КОН (pH 4, об/об/об = 1: 2: 0,8) (Bligh & Dyer, 1959). Розділення сукупної фракції ліпідів було проведено методом колонкової хроматографії. Процес дериватизації було проведено в два етапи:

- гідроліз фосфатних груп лужним каталізатором в присутності метанолу протягом 10 хв. при 100°C,
- метилювання BF₃ в присутності метанолу при 80°C протягом 15 хв.

Зразки метилових ефірів було проаналізовано за допомогою газової хроматографії (GC5890 з MS 5971A, Agilent, Waldbronn, Німеччина). Отримані хроматограми було візуальзовано та проаналізовано за допомогою програми MassHunter фірми Agilent для інтеграції піків та ідентифікації жирних кислот. Інтегровані піки було описано з використанням програми Microsoft Excel 2016.

Результати дослідження та їх обговорення.

За результатами аналізу показників радіонуклідного забруднення територій природних екосистем та

ПТЛРВ було встановлено, що найвищою питомою активністю ^{137}Cs характеризуються ПТЛРВ «Рудий ліс 1» (траншея) і «Рудий ліс 2» (поза траншеєю), яка склала 86600 ± 8660 Бк/кг та 33700 ± 3404 Бк/кг відповідно. Питома активність ^{137}Cs «Ставка охолоджувача» склала 3850 ± 350 Бк/кг. Найменш забрудненою встановлено ділянку з питомою активністю ^{137}Cs ґрунту 133 ± 17 Бк/кг, проби з якої було відібрано поблизу с. Залісся.

Аналіз ФЛЖК було використано в якості біомаркера для визначення структури мікробіомів, мікробної біомаси та функціонального стану мікробних угруповань. Склад профілів ФЛЖК визначається жирними кислотами з різною довжиною, насиченістю та розгалуженням карбонового ланцюга. Сукупність всіх ЖК у зразку вказує на вміст життєздатної біомаси та дозволяє охарактеризувати вплив факторів навколишнього середовища.

Використання аналізу ФЛЖК, як індикатора життєздатності мікробної

біомаси було прийнято на основі досліджень, що свідчать про їх швидку деградацію після смерті клітини.

Проаналізувавши вміст мікробної біомаси (рисунок 1), було помічено відмінності у рівні ФЛЖК з ПТЛРВ порівняно з території «Залісся». Найвищий рівень сукупної ФЛЖК спостерігався на території «Залісся» та склав $17,4 \pm 10,6$ мкг/г.

З території ПТЛРВ «Рудий ліс 1» (траншея) та «Рудий ліс 2» (поза траншеєю) показник рівню сукупної ФЛЖК склав $16,3 \pm 3,4$ мкг/г та $16,4 \pm 2,9$ мкг/г відповідно. Що нижче, ніж з території «Залісся». Показники ФЛЖК у «Ставку охолоджувачі» значно відрізняються від «Рудого лісу» та «Залісся». Низький рівень ФЛЖК у зразках «Ставка охолоджувача» значною мірою був обумовлений ґрунтово-кліматичними факторами, ніж впливом радіоактивного забруднення території.

Під час проведення кількісної оцінки відсоткового складу груп (рисунок 2), у сукупній ФЛЖК у зразках

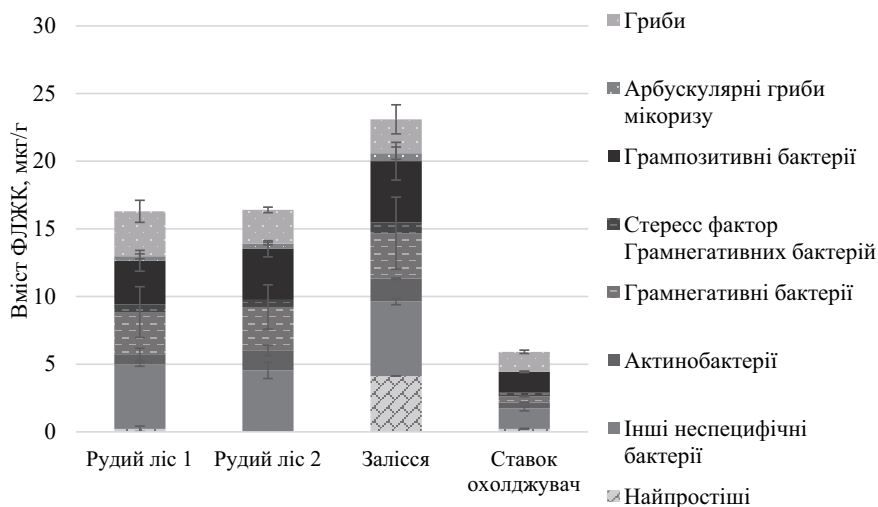


Рис. 1 Вміст сукупної ФЛЖК у зразках ґрунту забруднених радіонуклідами територій та чистої екосистеми.

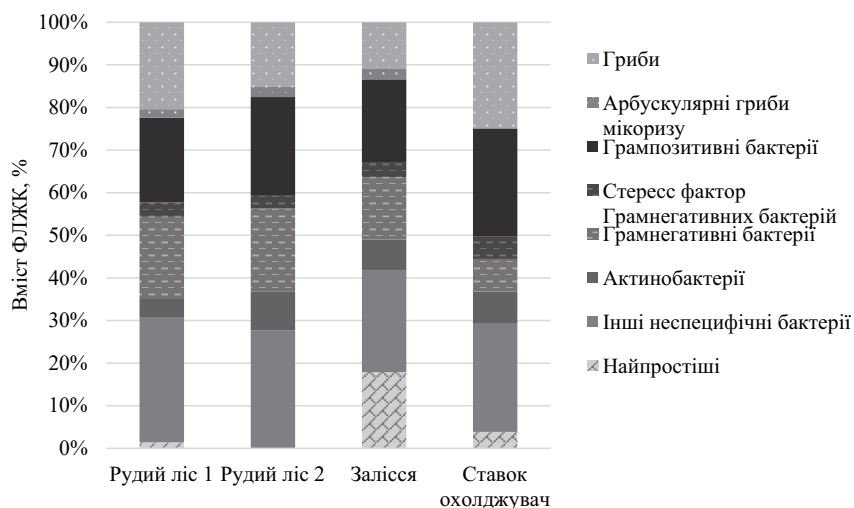


Рис. 2. Частка груп, що припадає на сукупну ФЛЖК у зразках ґрунту забруднених радіонуклідами територій та чистої екосистеми.

було помічено зміну профілю ПТЛРВ «Рудий ліс» відносно точки «Залісся».

Результати верифікації отриманих даних щодо зміни таксономічного складу дозволили встановити значне підвищення вмісту грибів, грампозитивних та грамнегативних бактерій у ПТЛРВ «Рудий ліс», порівняно з точкою «Залісся».

Базуючись на попередніх дослідженнях, важко стверджувати, що відмінність у складі ФЛЖК профілю обумовлена саме вмістом радіонуклідів. Проте, порівнюючи між собою дві подібні екосистеми, було виявлено відмінності у їх складі. При порівнянні профілів «Рудого лісу» у траншеї та поза траншеєю, було помічено збільшення вмісту грибів та зменшенню вмісту грампозитивних бактерій та актинобактерій.

Висновки і перспективи

За допомогою аналізу фосфоліпідних біомаркерів було отримано дані стосовно складу мікробного угруповання проб ґрунту з території ПТЛРВ «Рудий ліс 1» (траншея), «Рудий ліс

2» (поза траншеєю) та «Ставка охолоджувача». Показано, що незважаючи на важкість та незначні недоліки методу, а саме – не відображення всієї повноти змін в природних популяціях окремих видів, для яких відсутня інформація про якісний та кількісний розподіл ЖК серед мікробних таксонів, такий підхід досі широко застосовується для оцінки мікробної біомаси в сучасних екологічних дослідженнях. Аналіз ФЛЖК добре відображає зміни у таксономічному співвідношенні під впливом навколишнього середовища та полутантів.

Використання даного методу для оцінки впливу РАВ на мікрофлору ґрунту дозволило отримати задовільні результати та уникнути прямої роботи з культивування та аналізу мікробних культур. Тоді як, однієї з характерних переваг аналізу ФЛЖК була репрезентативність вмісту життєздатної біомаси.

Таким чином, аналіз ФЛЖК може бути однією з альтернатив секвенуванню для оцінки кількісного та якісного складу мікробної біомаси та

структури мікробіому забруднених радіонуклідами територій.

Подяка. Автори статі бажають висловити подяку професору Міхаеле Діпольд та Дороднікову Максиму з відділу Біогеохімії та Агроєкосистем Геттінгенського університету ім. Георга-Августа за допомогу у проведенні аналізу ліпідних біомаркерів.

References

1. Apostel, C., Herschbach, J., Bore, E. K., Spielvogel, S., Kuzyakov, Y., & Dippold, M. A. (2018). Food for microorganisms: Position-specific ¹³C labeling and ¹³C-PLFA analysis reveals preferences for sorbed or necromass C. *Geoderma*, 312 (February 2017), 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.09.042>
2. Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911–917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
3. Einor, D., Bonisoli-alquati, A., Costantini, D., Mousseau, T. A., & Møller, A. P. (2016). Science of the Total Environment Ionizing radiation , antioxidant response and oxidative damage : A meta-analysis. *Science of the Total Environment*, 548–549, 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.027>
4. ISO 18589-3:2007: International standard. Measurement of radioactivity in the environment – Soil – Part 3: Measurement of gamma-emitting radionuclides. 2007. 28 p. (2007). <https://www.iso.org/ru/standard/40875.html>
5. Ivanishvili, N. I., Gogebashvili, M. E., & Gvritishvili, N. Z. (2016). Gamma-radiation effect on the parameters of the population recovery of plants. *Annals of Agrarian Science*, 14(4), 319–322. <https://doi.org/10.1016/j.aasci.2016.10.005>
6. Jeannotte, R., Hamel, C., Jabaji, S., & Whalen, J. K. (2011). Pyrolysis-mass spectrometry and gas chromatography-flame ionization detection as complementary tools for soil lipid characterization. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 90(2), 232–237. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2010.12.010>
7. Kashparov, V., Yoschenko, V., Levchuk, S., Bugai, D., Van Meir, N., Simonucci, C., & Martin-Garin, A. (2012). Radionuclide migration in the experimental polygon of the Red Forest waste site in the Chernobyl zone - Part 1: Characterization of the waste trench, fuel particle transformation processes in soils, biogenic fluxes and effects on biota. *Applied Geochemistry*, 27(7), 1348–1358. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2011.11.004>
8. Kashparov, Valery, Levchuk, S., Zhurba, M., Protsak, V., Khomutinin, Y., Beresford, N. A., & Chaplow, J. S. (2018). Spatial datasets of radionuclide contamination in the Ukrainian Chernobyl Exclusion Zone. *Earth System Science Data*, 10(1), 339–353. <https://doi.org/10.5194/essd-10-339-2018>
9. Nichols, P. D., Glen A., S., Antworth, C. P., Hanson, R. S., & White, D. C. (1985). Phospholipid and lipopolysaccharide normal and hydroxy fatty acids as potential signatures for methane-oxidizing bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 31(6), 327–335. [https://doi.org/10.1016/0378-1097\(85\)90028-X](https://doi.org/10.1016/0378-1097(85)90028-X)
10. Niedrée, B., Berns, A. E., Vereecken, H., & Buraue, P. (2013). Do Chernobyl-like contaminations with (¹³⁷)Cs and (⁹⁰)Sr affect the microbial community, the fungal biomass and the composition of soil organic matter in soil? *Journal of Environmental Radioactivity*, 118, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2012.11.007>
11. Olsson, P. A. (1999). Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 29(4), 303–310. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(99\)00021-5](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(99)00021-5)
12. Parker, J. H., Smith, G. A., Fredrickson, H. L., Vestal, J. R., & White, D. C. (1982). Sensitive assay, based on hydroxy fatty acids from lipopolysaccharide lipid A, for gram-negative bacteria in sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 41(6), 1511–1515.

- tal Microbiology, 44(5), 1170–1177. <https://doi.org/10.1128/aem.44.5.1170-1177.1982>
13. Rushdi, A. I., Oros, D. R., Al-Mutlaq, K. F., He, D., Medeiros, P. M., & Simoneit, B. R. T. (2016). Lipid, sterol and saccharide sources and dynamics in surface soils during an annual cycle in a temperate climate region. *Applied Geochemistry*, 66, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2015.11.007>
 14. Stahl, P. D., & Klug, M. J. (1996). Characterization and differentiation of filamentous fungi based on fatty acid composition. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(11), 4136–4146. <https://doi.org/10.1128/aem.62.11.4136-4146.1996>
 15. Tribollet, B. (2012). Microbiologically influenced corrosion (MIC) in nuclear power plant systems and components. In *Nuclear Corrosion Science and Engineering* (pp. 230–261). <https://doi.org/10.1533/9780857095343.2.230>
 16. Vestal, J. R., & White, D. C. (1989). Lipid Analysis Microbial Ecology. *BioScience*, 39(8), 535–541.
 17. White, D. C. (1988). Validation of quantitative analysis for microbial biomass, community structure, and metabolic activity. *Arch. Hydrobiol. Erg. Limnol.*, 31, 1–18.
 18. White, D. C., Davis, W. M., Nickels, J. S., King, J. D., & Bobbie, R. J. (1979). Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. *Oecologia*, 40(1), 51–62. <https://doi.org/10.1007/BF00388810>
 19. Wilkinson, S. G. (1988). Gram-negative bacteria. In C. Ratledge & S. Wilkinson (Eds.), *Microbial Lipids Vol. 1* (pp. 299–488). London: Academic Press.
 20. Zelles, L. (1997). Phospholipid fatty acid profiles in selected members of soil microbial communities. *Chemosphere*, 35(1–2), 275–294. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(97\)00155-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)00155-0)
 21. Zelles, L. (1999). Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: A review. *Biology and Fertility of Soils*, 29(2), 111–129. <https://doi.org/10.1007/s003740050533>

Y. Ruban, K. Shavanova, V. Illienko, K. Korepanova, D. Samofalova, S. Nikonov, N. Shpyrka, N. Nesterova, O. Pareniuk **PHOSPHOLIPID BIOMARKERS ANALYSIS AS A TOOL FOR MICROBIAL COMMUNITY ASSESSMENT ON RADIONUCLIDES CONTAMINATED TERRITORIES. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION**, 11(1): 83-92. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/14323>. <https://doi.org/10.31548/biologiya2020.03.009>.

Abstract. The presence of specific components in the environment can change the state of cenoses. The effect of ionizing radiation on plant communities, animals and humans have been well studied, while the effect on soil microflora has not been insufficiently studied. In this paper investigated the effect of radionuclide contamination on microflora of soil samples from the territory of PTLRW “Red Forest 1” (trench), “Red Forest 2” (outside the trench), “Cooling Pond” and “Zalissia”. Phospholipid fatty acid (PLFA) content was obtained by PLFA analysis. The highest level of total PLFA was observed in the territory of “Zalissia” which was $17.40 \pm 10.59 \mu\text{g} / \text{h}$. From the territory of PTLRW “Red Forest 1” (trench) and “Red Forest 2” (outside the trench) the level of total PLFA was $16.29 \pm 3.43 \mu\text{g} / \text{g}$ and $16.40 \pm 2.90 \mu\text{g} / \text{h}$, respectively. The PLFA content of the “Cooling Pond” was significantly different from the “Red Forest” and “Zalissia”.

The taxonomic groups assessment of the samples, a fungus, gram-positive and gram-negative bacteria content increased in PTLRW “Red Forest” relative to the point “Zalissia”.

Keywords: Biomarkers, radionuclides, Chernobyl Exclusion Zone, PLFA, microorganisms