

ДІАГНОСТИКА ЕФЕКТИВНОСТІ ФУНКЦІОНУВАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНОГО АПАРАТУ ПЕРСПЕКТИВНИХ СОРТІВ ТА ЕЛІТНИХ ФОРМ СЛИВИ (*PRUNUS DOMESTICA*)

О.І. КИТАЄВ, В.А. КРИВОШАПКА,

ORCID: 0000-0003-4713-8149

О.А. КИЩАК,

ORCID: 0000-0001-8935-7652, 050 443 89 87

Інститут садівництва НААН України, Київ, Україна

В.В. ФІЛЬОВ,

Дослідна станція помології ім. Л.П. Симиренка Інституту садівництва
(ІС) НААН України, с. Мліїв, Україна

Анотація. Наведено результати досліджень функціонування листкового апарату перспективних сортів та елітних форм сливи селекції Дослідної станції помології ім. Л.П. Симиренка, які проводилися для визначення потенціалу їхньої адаптивності і продуктивності. Функціональний стан рослин вивчали за допомогою портативного флуориметру «Флоратест», визначаючи індукційні зміни флуоресценції хлорофілу листків. Аналіз зелених пігментів у них проводили в спиртових екстрактах, застосовуючи спектрофотометричний метод. Визначено значну негативну кореляцію ($r = -0,71$) між співвідношенням хлорофілів a/b і сумарним вмістом пігментів (в мг/г сирової речовини) та кількістю хлорофілу b і співвідношенням хлорофілів a/b ($r = -0,85$), що є свідченням високої адаптивної здатності й регуляторних можливостей (на рівні синтезу певних форм хлорофілів) пігментних систем хлоропластів листя всіх перспективних сортів і елітних форм сливи до змін світлового режиму в кроні дерев.

За параметрами, що характеризують потенційну фотосинтетичну ефективність і продуктивність дерев визнано найбільш продуктивними серед ранньостиглих сортів Одну, серед середньостиглих – Чачакську найболя, Заманчиву та Янтарну Мліївську, серед пізньостиглих – Стенлей і Блюфрі та елітні форми 8124 (Престиж) та 8143. Найнижча ефективність фотосинтетичних процесів

за всіма параметрами визначена у форми 9996. Виявлено досить високу адаптивність листового апарату дерев усіх сортів і форм до змін умов освітленості за показниками індукції флуоресценції хлорофілу Fr1 і Fr2 і вмістом зелених пігментів у листі. За коефіцієнтом плато KpL вірусної інфекції не виявлено.

Ключові слова: адаптивність, вміст пігментів, листовий апарат, продуктивність, сорти та елітні форми сливи, флуоресценція хлорофілу, фотосинтетична активність.

Вступ.

Дослідження параметрів флуоресценції хлорофілу є потужним інструментом аналізу процесів фотосинтезу та впливу різноманітних фізіологічних, агробіологічних, екологічних та інших чинників на функціональний стан рослин.

Фотосинтезуюча діяльність рослин займає провідну роль у формуванні потенційної продуктивності сільськогосподарських культур. Основним пігментом рослинної клітини є хлорофіл, який має здатність флуоресцювати [1, 2]. Стан фотосинтетичного апарату можна визначати за індукційними змінами флуоресценції хлорофілу в листку, що зумовлено тісним зв'язком між її інтенсивністю і фотосинтетичними реакціями [3, 4]. Стабільність фотосинтетичної активності сортів та гібридів різних рослин значною мірою зумовлена генетично детермінованою специфічністю структурно-функціональної організації їхнього асиміляційного апарату [5, 6].

Для аналізу фотосинтетичних процесів у листках використовують метод індукції флуоресценції хлорофілу, що дає змогу, не завдаючи шкоди рослинам, визначити їхній загальний стан, потенційну продуктивність в умовах дії як абіотичних, так і біотичних чинників, а також встановити

їхній вплив на певні фази перебігу фотосинтезу [7, 8]. На думку більшості вчених саме фоновий рівень флуоресценції (F_0) дає можливість оцінювати функціональний стан рослин. Він пропорційний кількості молекул хлорофілу, які не беруть участь у фотосинтезі. Чим вищий цей показник, тим нижча фотосинтетична активність [9, 10]. Використання зазначеного методу дає можливість виявити на ранніх стадіях прояви несумісності сорто-підщепних комбінувань, а також і потенційні вірусні хвороби в плодових рослин [11, 12].

Метою досліджень було виділення найбільш продуктивних сортів і елітних форм сливи через визначення ефективності функціонування їхнього листового апарату.

Матеріали і методи досліджень.

Дослідні насадження закладено у 2002 році на Дослідній станції помології ім. Л. П. Симиренка (с. Мліїв, Черкаська обл.) за методикою первинного сортовивчення. Деревя сортів, що вивчаються, щеплені на сіянцях аличі і висаджені за схемою 6 x 4 м. Форма крони – розріджено-ярусна, зрошення відсутнє. Кожний сорт представлено 30 рослинами (повторення триразове по 10 дерев, які роз-

міщено рендомізовано). Об'єктами досліджень були 13 сортів і 10 елітних форм сливи, що вивчалися в лабораторії фізіології рослин і мікробіології Інституту садівництва НААН у 2018–2019 рр. Функціональний стан рослин визначали за допомогою приладу «Флоратест» внаслідок спостережень за індукційними змінами флуоресценції хлорофілу листків [13, 14], а зелені пігменти - в екстрактах етилового спирту із застосуванням спектрофотометричного методу за допомогою спектроколориметра КФК-3 [15]. Зразки відбирались у фазу найбільшого розвитку асиміляційного апарату (початок другої декади червня), триразова повторність по 5 листків у зразку. Для оцінювання функціонального стану фотосинтетичного апарату за індукційними змінами флуоресценції хлорофілу використано комплекс параметрів, що дало змогу проаналізувати зміни фотосинтетичних процесів у листках, а саме: F_o – початкове значення, або фоновий рівень флуоресценції (після ввімкнення освітлення), пропорційне кількості молекул хлорофілу, F_{pL} – рівень її флуоресценції на час тимчасового уповільнення зростання її сигналу («плато»), F_p (F_{p1}) – максимальне значення флуоресценції, F_M (F_{p2}) – другий її максимум, F_{st} – стаціонарний її рівень через 1,5–3,0 хвилини після початку освітлення.

Інші показники, що характеризують перебіг фотосинтетичних процесів у листках визначали за формулами:

K_{pL} – так званий «коефіцієнт плато», який характеризує частку первинних акцепторів електронів за насичуючої фотосинтез інтенсивності світла (понад 400 Вт/м²) фотосистеми 2 (ФС 2) – Q_a , що не відновлюють реакційні центри: $K_{pL} = \Delta F_{pL} / F_v$,

$\Delta F_{pL} = F_{pL} - F_o$, $F_v = F_{p1} - F_o$. За умов нашого експерименту за інтенсивності збуджувального світла 80...100 Вт/м² розраховуємо «діагностичне» $K_{pL}^* = \Delta F_{pL} / F_v$.

K_i – коефіцієнт ефективності світлової фази фотосинтезу та електронного транспорту поблизу реакційних центрів фотосистеми 2 (ФС 2): $K_i = F_v / F_{p1}$;

RFD – коефіцієнт ефективності темнових фотохімічних процесів, або коефіцієнт спаду флуоресценції, який характеризує квантову ефективність фотосинтезу (індекс життєздатності): $RFD = (F_M - F_{st}) / F_{st}$. Усі показники індукційної кривої представлено у відносних одиницях (в.о.) еталона флуоресценції (світлофільтр ОС-14) з емісією в тому ж спектральному діапазоні, що і флуоресценція хлорофілу листка.

Статистичне опрацювання результатів вимірювань проводили методами дисперсійного та кореляційного аналізу за Б.О. Доспеховим із застосуванням комп'ютерної програми обробки даних „AGROSTAT” і засобів Excel.

Результати дослідження та їх обговорення.

Ефективність фотосинтезу залежить як від кількості зелених пігментів у листку, так і від співвідношення форм хлорофілів a/b , що характеризує структурну організацію на рівні супрамолекулярних комплексів, а саме співвідношення комплексів ФС 1 і ФС 2, і ступінь потенціалу адаптації до змін довкілля. Уміст хлорофілів значно змінюється під впливом чинників довкілля, а саме: освітлення листків, кількість азоту в ґрунті тощо, тому його можна розглядати як функціональний тест на адаптивність рос-

лин до цих чинників. Аналіз вмісту пігментів у листі дерев сортів різних строків досягання свідчить про досить значну кількість у них хлорофілів (табл. 1). Водночас їхній сумарний уміст, у перерахунку як на сиру речовину, так і на площу листової поверхні в ранньостиглих сортів дещо вищий - у середньому відповідно 1,62 мг/г та 1,91 мг/дм², у середньостиглих – відповідно 1,18 і 1,65 і пізньостиглих - 1,2 мг/г та 1,64 мг/дм².

Серед ранньостиглих найвищим сумарним вмістом пігментів відзначався сорт Герман - відповідно 1,97 мг/г і 2,38 мг/дм², середньостиглих - Чачакська краща - 1,70 і 2,26 відповідно та пізньостиглих – елітна форма 7794 - 1,76 мг/г та 1,89 мг/дм². Найменшу кількість хлорофілів відмічено в елітній форми 9605 (середньостигла) - 0,80 мг/г та 1,02 мг/дм² та пізньостиглої 8124 – відповідно 0,79 мг/г і 1,11 мг/дм². Визначений уміст пігментів є достатнім для забезпечення фотосинтетичних процесів, хоча вважається, що кількість хлорофілів не є лімітуючим чинником. Сонячна радіація, яка надходить до поверхні листя, є більш обмежуючим чинником для фотосинтезу й зумовлює зміни в кількості хлорофілів для пристосування пігментного апарату до світлового режиму в кроні. Більш затінене листя містить більше хлорофілу, ніж освітлене. Крім того, у листках із периферії крони за достатнього їхнього освітлення співвідношення хлорофілів a/b зростає [16].

У наших дослідях в усіх сортів та елітних форм співвідношення a/b становило в середньому більше 3,0, а саме: у ранньостиглих – 3,1, середньостиглих – 3,95 і пізньостиглих – 3,8. Водночас взаємозв'язок між мінливістю кількості пігментів і

співвідношенням хлорофілів a/b був досить високий. Кореляція між останнім показником і сумарним вмістом пігментів, визначена в мг/г сирої речовини, виявилася негативною ($r = -0,71$). Крім того, встановлено ще більш значущу негативну кореляцію ($r = -0,85$) між співвідношенням хлорофілів a/b і кількістю другого з них, що свідчить про адаптивні зміни в синтезі окремих форм хлорофілів у листках сливи за умов варіювання світлового режиму в кроні.

Формування потенційної продуктивності рослин тісно пов'язане із їхньою фотосинтезуючою діяльністю, особливе місце в якій займає активність роботи хлоропластів. Одним із найбільш інформативних методів, що дає змогу швидко визначити ефективність функціонування хлоропластів і загалом листка є визначення індукції флуоресценції хлорофілу (ІФХ). Зміна інтенсивності флуоресценції сортів та перспективних форм сливи показано на графіках (рис. 1).

Показник F_o (рівень флуоресценції хлорофілу, котра випромінюється комплексами ФС 2 з «відкритими» реакційними центрами) залежить від втрат енергії збудження під час її міграції пігментною матрицею світлозбиральних комплексів, крім того, певний вклад вносять знов синтезовані пігменти та пігменти функціонально не пов'язані з реакційними центрами [17]. Листки рослин сливи мали доволі низький рівень F_o у межах 220-460 в.о., що складає 25–30 % від максимального рівня F_p . Останнє вказує на незначну частку хлорофілу, який не приймає участі у фотосинтезі.

Збільшення флуоресценції від F_o до рівня F_{pL} опосередковане швидким відновленням Q_a в комплексах реакційних центрів ФС 2, які не

1. Уміст зелених пігментів у листках різних сортів і елітних форм сливи, середнє за 2018 – 2019 рр.*

Сорт, елітна форма	Уміст хлорофілів						a/b
	мг/г			мг/дм²			
	a	b	a+b	a	b	a+b	
Ранньостиглі							
Ненька (к.)	1,07	0,31	1,38	1,49	0,43	1,92	3,43
Ода	1,14	0,37	1,51	1,08	0,35	1,43	3,07
Герман	1,45	0,52	1,97	1,75	0,62	2,38	2,81
Середньостиглі							
Ренклюд Карбишева(к.)	1,18	0,36	1,54	1,65	0,50	2,15	3,30
12516	1,05	0,32	1,37	1,54	0,47	2,01	3,31
7756	1,08	0,31	1,40	1,58	0,46	2,04	3,47
8087	1,00	0,25	1,25	1,21	0,30	1,51	4,02
9605	0,65	0,14	0,80	0,83	0,18	1,02	4,58
9996	0,88	0,26	1,14	1,23	0,37	1,60	3,34
12456 (Добра)	0,88	0,19	1,07	1,23	0,26	1,49	4,66
Заманчива	1,01	0,29	1,30	1,41	0,41	1,81	3,46
Чачакська краща	1,30	0,40	1,70	1,73	0,53	2,26	3,25
Янтарна мліївська	0,65	0,13	0,78	0,98	0,20	1,18	4,82
Пізнньостиглі							
Стенлей (к.)	0,80	0,19	0,99	1,33	0,32	1,65	4,17
7794	1,40	0,36	1,76	1,50	0,39	1,89	3,85
8110	0,99	0,26	1,25	1,32	0,35	1,67	3,82
8124	0,64	0,15	0,79	0,90	0,21	1,11	4,25
8143	1,07	0,28	1,35	1,63	0,42	2,05	3,84
Рекорд	0,92	0,34	1,26	0,93	0,35	1,28	2,70
Топхіт	0,99	0,25	1,24	1,39	0,34	1,74	4,04
Блюфрі	0,90	0,25	1,15	1,20	0,33	1,53	3,62
Президент	0,76	0,19	0,95	1,20	0,30	1,51	3,94
Штутгарт	0,98	0,31	1,29	1,70	0,53	2,22	3,22
НІР05	0,15	0,04	0,19	0,20	0,06	0,26	-

* - зразки відбирались у фазу найбільшого розвитку асиміляційного апарату (початок другої декади червня).

здійснюють відновлення вторинного акцептора Q_{ϕ} , що характеризує їх як неактивні. Такі реакційні центри так і називають ті, що не відновлюють Q_{ϕ} [5]. Наростання флуоресценції від F_o

до F_{PL} визначається показником ΔF_{PL} , і в нашому експерименті він був на рівні 70-260 в.о.

За насичуючого фотосинтез рівня освітленості (400-600 Вт/м²), співвід-

ношення $\Delta F_{pL}/F_v$, визначає частку реакційних центрів, які не відновлюють Q_b . Водночас воно досить незначне, оскільки F_p а з ним і F_v насичується за значно вищої інтенсивності збуджуючого світла ніж F_{pL} . У нашому експерименті рівень інтенсивності

збуджуючого світла був нижчим у межах 80-100 Вт/м², і тому флуоресценція на рівні F_{pL} співставна з F_p . Отже, співвідношення $\Delta F_{pL}/F_v$ буде набагато більше, ніж за насичуючого світла. Проте за таких умов проведення експерименту показник K_{pL}^* , який ми

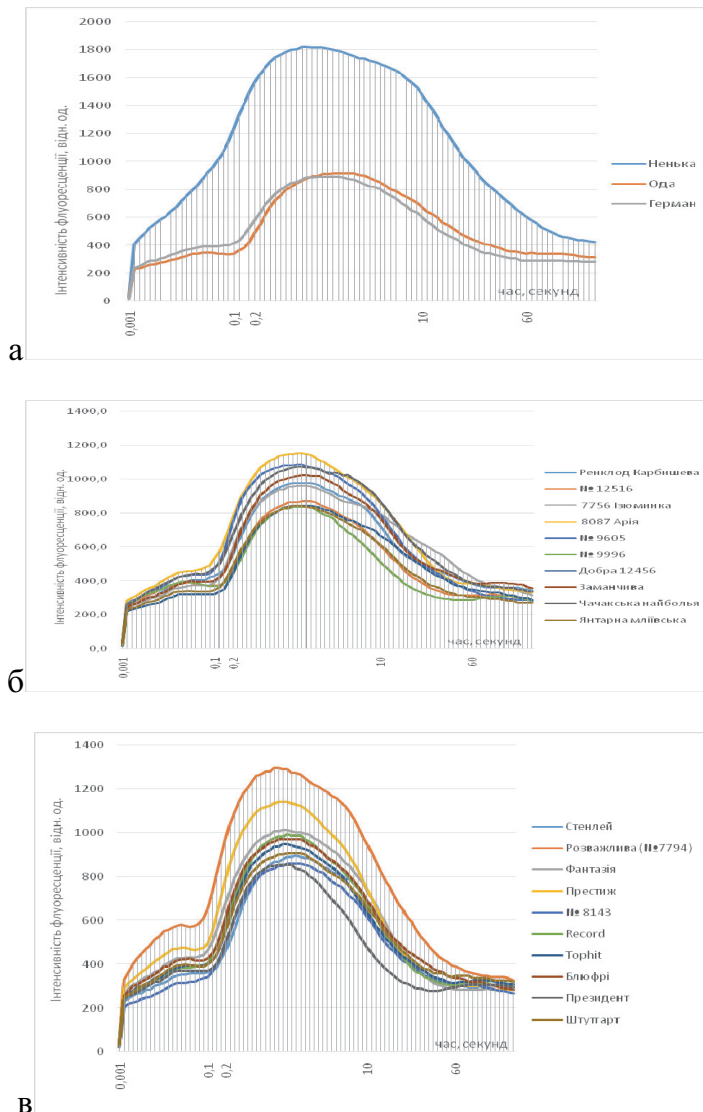


Рис. 1. Індукційні зміни флуоресценції хлорофілу в листках різних сортів та елітних форм сливи: а – ранньостиглі; б – середньостиглі; в – пізньостиглі.

назвали «діагностичним» із більшою ефективністю може характеризувати рівень зараження рослин патогенами вірусної природи.

За даними вірусологів М. М. Кирика і Ю. М. Таранухо [12] перевищення рівня $\Delta F_{pl}/F_v$ 0,45 (за низької інтенсивності збуджуючого світла) вказує на високу ймовірність ураження рослин вірусною інфекцією. У нашому досліді $\Delta F_{pl}/F_v$ було в межах 0,11–0,23, що є настільки малим, що може бути функціональною ознакою відсутності вірусної інфекції в дослідних зразках сортів та гібридів сливи. Однак, збільшення частки неактивних реакційних центрів може відбуватися та під впливом абіотичних чинників.

Водночас відмітимо, що найвищі значення K_{pl}^* було зафіксовано в ранньостиглого сорту Герман – 0,22, середньостиглої елітної форми 9996 – 0,21 та пізньостиглої елітної форми 7794 – 0,23. Найменші значення в ранньостиглого сорту Ненька – 0,15, середньостиглої елітної форми Добра (12456) та пізньостиглого сорту Стенлей по 0,11. За групами стиглості середні значення коефіцієнту плато діагностичного K_{pl}^* були такими: ранньостиглі – 0,19, середньо- та пізньостиглі – 0,17. Отже, показник K_{pl}^* дає змогу оцінити рівень пошкодження реакційних центрів хлоропластів листків сортів та елітних гібридних форм сливи. Водночас його низькі значення вказують на відсутність впливу вірусної інфекції та абіотичних чинників на функціональний стан рослин. Однак значні відмінності значення K_{pl}^* вказують на різну кількість неактивних реакційних центрів, що не відновлюють вторинний акцептор електронів ФС 2 передусім унаслідок порушення внутрішньої конверсії енергії та розподілу електронів у самих реакційних центрах за дефіциту Cu.

Сігмоїдальне збільшення інтенсивності флуоресценції від F_{pl} до F_p викликано поступовим відновленням компонентів електрон-транспортного ланцюга (ЕТЛ). Водночас за відсутністю відтоку електронів до пулу переносників ЕТЛ відбувається відновлення Q_a в комплексах ФС 2, що відновлюють Q_e , що супроводжується збільшенням квантового виходу флуоресценції цих комплексів.

Параметр F_p характеризує найбільший рівень флуоресценції хлорофілу a , що фіксується на індукційній кривій. За умов насичуючої інтенсивності світла максимальне значення флуоресценції зумовлено динамічною рівновагою між процесами флуоресценції, фотохімії і теплової дисипації. Вважається що у точці F_p за максимального рівня флуоресценції фотосинтез перебуває на мінімальному рівні. Для рослин сливи він перебуває в межах від 837 до 1819 в.о. Цей параметр найбільш варіабельний, що зумовлено адаптивними змінами у структурі пігментного комплексу відповідно до інтенсивності сонячного випромінювання, що надходить до листка. За недостатньої інсоляції, що зумовлено затіненням листків у кроні дерев відбувається збільшення як світлозбираючих, так і антенних хлорофілів, останнє супроводжується зростанням рівня F_p особливо в раннього сорту Ода – 1819 в.о. та пізньостиглої елітної форми 7794 – 1296 відносних одиниць. Найменша амплітуда F_p зареєстрована в елітної форми 9996 – 837 та сортів Янтарна Мліївська та Добра – 843 відносних одиниць. Останнє зв'язано з архітектонікою та габітусом крони дерев. Водночас коефіцієнт індукції $K_i = F_v/F_p$, що характеризує ефективність світлової фази фотосинтезу та електронного тран-

спорту поблизу реакційних центрів ФС 2, змінюється (залежно від сорту) від 0,67 до 0,75, що вказує на високий рівень структурно-функціональної організації супрамолекулярних комплексів реакційних центрів ФС 2, тому що в більшості сортів сливи він перевищує 0,70. Коефіцієнт ефективності світлової фази фотосинтезу та електронного транспорту поблизу реакційних центрів фотосистеми 2 K_i за групами стиглості змінювався так (середні значення): ранньостиглі – 0,73, середньо – та пізньостиглі – 0,72.

Проведений кореляційний аналіз параметрів K_{pl}^* та K_i виявив від'ємну кореляцію на рівні -0,58 для ранньостиглих сортів, а для середньостиглих сортів -0,35 та пізньостиглих -0,30. Взагалі факт від'ємної кореляції вказує на достатньо сильний вплив порушення внутрішньої конверсії енергії та розподілу електронів у реакційних центрах на ефективність фотосинтетичних процесів ФС 2 [18].

Поява другого максимуму на індукційній кривій (який часто зветься М-піком) пов'язана зі збільшенням споживання АТФ та частковою затримкою індукції циклу Кальвіна, що призводить до тимчасової релаксації градієнта протонів у тилакоїдній мембрані хлоропластів (ΔpH), а також до зниження нефотохімічного гасіння флуоресценції [19, 20]. Низка авторів вважає, що індукція циклу Кальвіна, як і амплітуда піка М, залежить від концентрації поновленого НАДФ⁺, який визначається доступністю та рівнем фотосинтетичної фіксації CO₂ [21].

У наших дослідках інтенсивність флуоресценції в другому максимумі змінюється від 700 до 1696 відн. од. Вважається, що в умовах недостатньої освітленості інтенсивність параметру F_M (M-пік) може бути вищою за F_P . У

наших дослідженнях для всіх сортів та гібридних форм зареєстровано перевищення F_P над параметром F_M на 7–12 % (див. рис. 1). Крім того, відмічені високі значення співвідношення хлорофілів a/b , що вказує на достатнє освітлення листків у кроні дерев сливи.

Інтенсивність спаду флуоресценції до рівня F_{st} характеризується коефіцієнтом RFD , який дістав назву індексу життєздатності, а також коефіцієнту адаптивності, і є інтегральним показником ефективності функціонування темнових фотохімічних процесів, перед усім циклу Кальвіна [22]. Визначена кореляція показника RFD з інтенсивністю фіксації вуглекислого газу [5]. Нами встановлено, що цей коефіцієнт змінюється від 1,55 у пізньостиглого сорту Штутгарт до 2,97 у ранньостиглого сорту Ода. Проведений кореляційний аналіз параметрів K_i та RFD визначив кореляцію на рівні 0,64 для ранньостиглих, 0,34 – для середньостиглих та 0,12 – для пізньостиглих. Індекс життєздатності (адаптивності) RFD мав такі середні значення: ранньостиглі – 2,19, середньо – 1,86, пізньостиглі – 2,02. Тобто відмічена тенденція до більш інтенсивного перебігу фотосинтетичних процесів у ранньостиглих сортів порівняно із середньо- та пізньостиглими.

Висновки і перспективи.

Визначена висока адаптивність листового апарату всіх перспективних сортів та елітних форм сливи до змін світлового режиму в кроні дерев, що підтверджується негативною кореляцією ($r = -0,71$) між співвідношенням хлорофілів a/b і сумарним умістом пігментів (в мг/г сирової речовини) та кількістю хлорофілу b і співвідношенням хлорофілів a/b ($r = -0,85$).

Ознак вірусної інфекції, яку контролювали за коефіцієнтом плато K_{pl} у досліджуваних сортів та елітних форм сливи не виявлено, оскільки значення цього показника були мінімальними (0,11–0,23) і не досягли порогового значення 0,45.

За комплексом показників K_{pl} , K_i та RFD , що вказують на високу ефективність фотосинтетичних процесів та потенційну продуктивність рослин, серед ранньостиглих сортів виділяється Ода, серед середньостиглих – Чачакська краща, Заманчива та Янтарна мліївська, серед пізньостиглих – сорти Стенлей і Блюфрі та форми 8124 і 8143. Найнижчу ефективність фотосинтетичних процесів, за всіма параметрами встановлено у форми 9996.

References

1. Nichiporovich A.A. (1973). Osnovy fotosintichieskoj produktivnosti rastenij. Sovremennyye problemy fotosinteza [Basis of the plants photosynthetic productivity. Photosynthesis modern problems]. M. 17-43 (in Russian).
2. Maxwell, K. & Johnson, G. (2000). Chlorophyll fluorescences practice guide. J. Exp. Bot. Vol. 345. 659-668.
3. Lysienko, V.S., Varduni. T.V. & Soyer, V.G. (2013). Fluorescenciia chlofilla rastenij kak pokazatel ekologichieskogo striessa: tie or ietichie skiie osnovy primienieniia mietoda [Plants chlorophyll fluorescence as the index of the ecological stress: the theoretical grounds of the method application]. Fundamentalnyie issliedovaniia. Biologichieskiie nauki [Fundamental researches. Biological sciences]. 4. 112-120 (in Russian).
4. Lazar, D. (1999). Chlorophyll a fluorescence induction. Biochim et Biophys. Acta. 1412. 1.1-28.
5. Kornyejev, D. Yu. (2002). Informacionnyie vozmozhnosti mietoda indukcii fluoiescencii chlorofilla [Informational possibilities of the chlorophyll fluorescence introduction method]. Alterpress.188 (in Russian).
6. Vasylenko, V.I. & Kitayev, O.I. (2014). Osoblyvosti funkcionuvannia lystkovogo aparatu derev vyshni [Peculiarities of the cherry trees leaf apparatus functioning]. Visnyk agrarnoi nauky. 3. 41-44 (in Ukrainian).
7. Kitayev, O.I. & Kryvoshapka, V.A. (2016). Diagnostyka vplyvy stresovykh factoriv na plodovi roslyny metodom indukcii fluoiescencii chlorofilu [Diagnosis of the stress factors influence on fruit plants by means of the chlorophyll fluorescence induction]. Actual researches and elaborations of the Institute of Horticulture of NAAS and its network. K. 35-36 (in Ukrainian).
8. Patyka, M.V., Grusha, V.V. & Gordiyenko, T.I. (2014). Monitoryng rostovykh procesiv roslyn v agrofitocenozach ekspres metodom indukcii fluoiescencii chlorofilu [Monitoring of the of the plants growth processes in the agrophytocoenoses by means of the express-method of the chlorophyll fluorescence induction] Collection of the research papers of the National Scientific Center "Institute of Agriculture of NAAS". 3. 49-55 (in Ukrainian).
9. Grusha, V.V., Kitayev, O.I. & Khodakivs'ka, Yu.B. (2017). Diia sorto-pidshchepnykh kombinyvan' i vstavok na funktsionalnyi stan lystkovogo aparatu derev grushi (Pirus communis L.) [Effect of the cultivar-rootstock combinations and inter-calaries on the pear (Pirus communis L.) trees leaf apparatus functional state]. Sadivnytstvo. 72. 58-64 (in Ukrainian).
10. Vasylenko, V.I., Moiseichenko, N.V., Kitayev, O.I. & Grusha, V.V. (2020) Funktsionalnyi stan fotosyntetychnogo aparatu derev lystia novykh sortiv chereszni (Cerasusavium Moench.) v Lisostepu Ukrainy [Functional state of the new sweet cherry (Cerasus

- Avium L.) cultivars trees leaves photo-synthetic apparatus in the Ukraine's Liso-steppe]. *Sadivnytstvo*. 75. 102-110. DOI: 10.35205/0558-1125-2020-75-102-110 (in Ukrainian).
11. Makarova, D.G. (2008). Potenciina produktyvnist' ta sumisnist' sortiv iabluni na klonovykh pidshchepach selekcii IS NAAN [Potential productivity and compatibility of the apple cultivars on the clonal root-stock bred by IH of NAAS]. *Visnyk of the L'viv Agrarian University*. L'viv. 12. 97-101(in Ukrainian).
 12. Kyryk, M.M., Taranukho, Yu.M., Taranukho, M.P. & et al. (2011). Diagnostyka virusnoi infekcii smorodyny chornoi ta malyny metodom induktsii fluorescencii chlorofiluly lustkiv [Diagnosis of the black currant and raspberry viral infection by means of the induction of the leaves chlorophyll fluorescence]. *Visnyk agrarnoi nauky*. 10. 26-28 (in Ukrainian).
 13. Kitayev, O.I. & Kryvoshapka, V.A. (2012). Diagnostyka funktsionalnogo stanu plodovykh roslyn metodom induktsii fluorescencii chlorofilu [Diagnosis of the fruit plant functional state by means of the chlorophyll fluorescence induction] *Sadivnytstvo*. 66. 215-221(in Ukrainian).
 14. Braion, O.V., Korniyeyev, D.Yu., Shyegur, O.O. & et al. (2000). Instrumentalne vyvchenia fotosyntetichnogo aparatu za dopomogoiu induktsii fluorescencii chlorofilu [Instrumental studies of the photosynthetic apparatus by means of the chlorophyll fluorescence induction]. *Methodical instruction for the students of the biological faculty of the T.G. Shevchenko National University*. Kyiv: Publishing Centre of the Kyiv T.G. Shevchenko National University. 15 (in Ukrainian).
 15. Pochinok, K.M. (1976). *Mietody biohimichieskogo analiza rastenii* [Methods of the plants biochemical analysis]. *Naukova dumka*. 192-218 (in Russian).
 16. Stirbu, A. (2012). Osobiennosti funktsionalnoi aktivnosti listiev u rastenii vinograda (*Vitis-viniflora* L.) v zavisimosti ot uslovii osvieshchienia [Peculiarities of the grape plants leaves functional activity depending on the enlightenment condition]. *Sadivnytstvo*. 66. 274-285 (in Russian).
 17. Marder, I.B., Caspi, V. & Raskin, V.I. (1995). Free chlorophyll effects on variable fluorescence. *Photosynthesis: from light to Biosphere*. P. Mathis. (ed.) Netherlands: Kluwer Academic Publ. Vol. 3. 305-308.
 18. Ouzounidou, G. (1993). Changes in variable chlorophyll fluorescence as a result of Cu-treatment dose response relations in *Silene* and *Thlaspi*. *Photosynthetica*. Vol. 29. 455-462.
 19. Krause, G.H. & Weis E. (1991). Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* Vol. 42. 313-349.
 20. Kurasova, I., Cajanek, M., Kalina, J. & Spunda, V. (2000). Analysis of quantitative contribution of assimilatory and non-assimilatory de-excitation processes to adaptation of photosynthetic apparatus of barley plants to high irradiance. *Photosynthetica*. Vol. 38. 4. 513-519.
 21. Bukhov, N. G., Boucher, N. & Carpentier, R. (1997). The correlation between the induction kinetics of the photoacoustic signal and chlorophyll fluorescence in barley leaves is governed by changes in the redox state of the photosystem II acceptor side. Study under atmospheric and high CO₂ concentrations. *Can. J. Bot.* Vol. 75. 1399-1406.
 22. Lichtenhaler, H. K., Buschmann, C. & Knapp, M. (2005). How to correctly determine the different chlorophyll fluorescence parameters and the chlorophyll fluorescence decrease ratio R_{Fd} of leaves with the PAM fluorometer. *Photosynthetica*. Vol. 43. 379-393.

O.I. Kitayev, V.A. Kryvoshapka, O.A. Kishchak, (2021). DIAGNOSIS OF THE EFFICIENCY OF THE FUNCTIONING OF THE PLUM (PRUNUS DOMESTICA) PROMISE CULTIVARS AND ELITE FORMS PHOTOSYNTHETIC APPARATUS.

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 12(1): 5-15.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15092>

<https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.001>.

Summary. The authors present the results of researching the functioning of the leaf apparatus of the plum promise cultivars and elite forms bred at the L.P. Symyrenko Research Station of Pomology that was carried out for the purpose of determining their potential adaptability and productivity. The plants functional state was studied by means of the portable fluorimeter 'Floratest' establishing the inductive changes of the leaves chlorophyll fluorescence. The analysis of the green pigments in them was conducted in spirit extracts applying the spectrophotometric method. The considerable negative correlation was revealed ($r = -0,71$) between the a/b chlorophylls correlation and pigments summary content (in mg/g of the humid substance), on the one hand, and the chlorophyll b and chlorophylls a/b correlation ($r = -0,85$), on the other hand. That proves the high regulatory capacity and adaptive ability (at the level of the chlorophylls certain forms synthesis) of the leaves chloroplasts pigment systems of all the investigated crop cultivars and elite forms to the changes of the light regime in the tree crown.

Concerning the parameters which characterize the plants potential photosynthetic effectivity and productivity the variety Oda has been recognized the most productive one among early ripening, Cacanska Najbolja, Zamanchivaya and Yantarna Mliivs'ka among middle-ripening, Stanley, Bluefree and forms 8124 and 8143 among late-ripening. The form 9996 had the lowest photosynthetic processes efficiency as for all the parameters. The rather high adaptability has been detected of the leaf apparatus of the trees of all the cultivars and forms to the changes of the enlightenment conditions as regards the indicators of the chlorophylls Fpl 1 and Fpl 2 fluorescence induction and green pigments content in the leaves. According to the plateau Kpl coefficient the viral infection was not revealed.

Keywords: adaptability, pigments content, leaf apparatus, productivity, plum cultivars and elite forms, chlorophyll fluorescence, photosynthetic activity.

АНАЛІЗ МЕТОДІВ ДІАГНОСТИКИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ ТОМАТІВ В УКРАЇНІ

Ю. В. КОЛОМІЄЦЬ, доцент кафедри екобіотехнології
та біорізнноманіття

Національний університет біоресурсів і природокористування України
<http://orcid.org/0000-0002-1919-6336>

Л. М. БУЦЕНКО, старший науковий співробітник

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
<http://orcid.org/0000-0002-3575-4289>
E-mail: julyja12345@gmail.com

Анотація. Ефективні та економічні методи виявлення й ідентифікації необхідні для дослідження екології, патогенезу й обмеження поширення фітопатогенних бактерій, а також для програм сертифікації насіння. Наведено доступні методи виявлення й ідентифікації чотирьох основних збудників бактеріальних хвороб томатів *Xanthomonas vesicatoria*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, які поширені в Україні. До цих методів належать мікробіологічні із застосуванням селективних середовищ, серологічні, молекулярні методи, що ґрунтуються на ампліфікації унікальних послідовностей ДНК. Застосування сучасних біохімічних тест-систем усунуло необхідність в ідентифікації фітопатогенних бактерій за допомогою тривалих рутинних методів. Наявні в продажі комерційні тест-системи забезпечують швидку ідентифікацію на рівні видів, а також виявляють нові й карантинні збудники. Методи, що ґрунтуються на ПЛР, мають переваги перед традиційними діагностичними тестами, оскільки ізоляти не потрібно культивувати до їхнього виявлення, а протоколи є високочутливими і швидкими.

Ключові слова: бактеріальні хвороби, томати, діагностичні методи, серологія, ПЛР.

Актуальність.

Томат є найважливішою овочевою культурою, яка уражається численними збудниками хвороб, серед яких значну шкідливістю мають бактеріози. Основними бактеріальними патогенами томатів, які спричиняють значну шкоду насадженням цієї культури в Україні, є *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, ксантомонади, які спричиняють бактеріальні плями (BSX) і збудник м'якої гнилі *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* [1, 2].

Збудник бактеріального в'янення й раку томатів, вважається одним із найбільш небезпечних бактеріальних патогенів у посівах томатів у всьому світі. Потрапивши всередину рослини, патоген розмножується в судинах ксилеми, утворюючи великі біоплівкові структури, які сприяють колонізації й переміщенню рослиною [3]. Симптоми хвороби проявляються на надземних частинах і включають в'янення листя і зміну кольору судинних тканин, що призводить до раку стебла [4].

Бактеріальна крапчастість томатів, що викликається *P. syringae* pv. *tomato*, є одним із найбільш поширених на території нашої країни бактеріальних захворювань як у тепличному, так і в польовому виробництві томатів [5]. Збудник потрапляє в міжклітинний простір листя через продихи або основу трихоми листка [6].

Симптоми чорної бактеріальної плямистості на листках томатів, які спричиняють декілька видів роду *Xanthomonas*, аналогічні тим, які описані для *P. syringae* pv. *tomato*. Бактерії проникають у рослини-господарі через продихи на поверхні листя або через рани й колонізують судинну систему [7].

P. carotovorum subsp. *carotovorum* це фітопатогенні ентєробактерії, які спричиняють м'яку гниль і здатна завдати серйозної шкоди багатьом рослинам у всьому світі в польових умовах і під час зберігання. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* продукують широкий спектр ферментів, що руйнують стінки клітин рослин, спричиняючи мацерацію різних органів і тканин рослин [8, 9].

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis* і BSX є карантинними організмами в Європейському Союзі (Список А2 Європейської організації з карантину та захисту рослин (ЄОК-ЗР)) і підлягають міжнародному фітосанітарному контролю [10]. Також в останні роки регулярно з'являються повідомлення підрозділів Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів про виявлення в деяких господарствах карантинного організму – збудника бурї гнилі *Ralstonia solanacearum*, внесеного до Списку А2 ЄОКЗР та карантинні списки багатьох країн світу [11]. Повідомляється про природне ураження томатів збудником кільцевої гнилі картоплі *C. michiganensis* subsp. *sepedonicum* [11], який включений в список А2 ЄОКЗР і у список А3 (регульовані некарантинні організми) Переліку регульованих шкідливих організмів (№ 879/33850 від 08 серпня 2019 р.) (табл. 1).

Норми Європейського Союзу вимагають, щоби розсадники перевірялися на фітосанітарний статус у відношенні поширених патогенів до виходу на комерційний ринок. Боротьба з хворобами, які спричинені патогенними бактеріями, зазвичай вимагає точного виявлення з подальшою правильною ідентифікацією

Таблиця 1. Економічно важливі збудники бактеріальних хвороб томатів

Збудники, які поширені в Україні	Карантинні збудники, по- ширення яких контролює- ється в Україні	Збудники, які є карантинни- ми в Євросоюзі
<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> , <i>X. vesicatoria</i> , <i>P. agglomerans</i> , <i>P. carotovorum</i> , <i>P. corrugate</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. marginalis</i> pv. <i>marginalis</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i> , <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicum</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i> <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicum</i>

збудника. З іншого боку, виявлення бактерій у безсимптомному рослинному матеріалі для профілактичного контролю необхідно, але може бути надзвичайно важким, оскільки можуть виникати невеликі популяції з нерівномірним розподілом патогена, тому потрібні високочутливі методи. Зважаючи на економічну важливість цих патогенів точне виявлення збудників хвороб має вирішальне значення, а також є однією з найбільш ефективних стратегій запобігання їхнього подальшого поширення.

Мета роботи – всебічний аналіз доступних методів діагностики збудників, зокрема, мікробіологічних, заснованих на селективних середовищах для вирощування, біохімічних і фізіологічних аналізах, серологічних і ампліфікації на основі послідовностей нуклеїнових кислот.

У 2019 – 2020 рр. для уточнення видового складу хвороб на томатах нами проводилися маршрутні обстеження фермерських господарств Київської, Херсонської й Сумської областей. У результаті моніторингу, упродовж усього вегетаційного періоду серед бактеріальних хвороб відзначали розвиток чорної бактеріальної плямистості, бактеріальної крапчастості, бактеріального раку і м'якої гнилі в посівах томатів. У Сумській області поширеність чорної

бактеріальної плямистості в червні становила 2–3,5 % за ступеня розвитку 1,5–2,0 %; упродовж вегетації рослин поширеність хвороби досягала 6,5–7,2 %, а ступінь розвитку хвороби 3,8–4,7 %. Поширеність збудника бактеріальної крапчастості була характерна для всіх господарств Київської, Херсонської й Сумської областей. Симптоми ураження томатів збудником з'являлися в першій декаді липня, а в серпні місяці ураженість становить 1,0–4,5 %, максимальна – 6,8, з розвитком хвороби – 0,3–6, плодів – 0,5–1,2 %. У трьох областях розвиток бактеріальної крапчастості на посадках томатів у вересні наприкінці вегетації був у межах 24,4–27,2 %. У Херсонській і Київській областях бактеріальний рак у посадках томатів проявився в першій декаді липня на 20 % рослин із розвитком хвороби 4,8 %. Масове ураження томатів бактеріальним раком припало на першу декаду серпня, коли ознаки хвороби в середньому розвивалися на – 35 %, максимально – 57 % рослин томатів. Так, під час обстеження тепличних господарств Київської області встановлено, що розвиток м'якої гнилі в другій і третій декаді липня склав 10–12 %. З другої декади серпня, у період плодоношення й дозрівання зазначається інтенсивний розвиток хвороби. До кінця вегетації

розвиток хвороби на стеблах і плодах досягав 30–34 % за поширеності 45 %. Отже, за сучасного стану вирощування томатів в умовах України видовий склад збудників бактеріальних хвороб томатів представлений *X. vesicatoria*, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *P. syringae* pv. *tomato*, *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*. Більш інтенсивний розвиток бактеріальних хвороб спостерігався в другій половині вегетаційного періоду, що пов'язано із загущеністю посадок томатів і утриманням вологи на рослинах. Отримані дані можуть бути використані для прогнозування фітосанітарного стану насаджень томатів в Україні та розроблення рекомендацій щодо захисту томатів від збудників бактеріальних хвороб. Своєчасна діагностика і визначення збудника дасть змогу аграрним підприємствам використовувати здоровий посадковий матеріал, забезпечити ефективний захист рослин та своєчасно знизити ймовірність поширення шкодочинних фітопатогенів.

У сучасній діагностиці бактеріальних хвороб овочевих культур використовують мікробіологічний, серологічний і молекулярний підходи.

Застосування мікробіологічних методів часто буває достатнім для більшості лабораторій для проведення рутинних аналізів при виявленні та діагностиці збудників бактеріальних хвороб. Крім того, їхньою перевагою є можливість отримати інформацію про біологічні особливості агента й дані, необхідні для виявлення джерел зараження. Однак застосування таких методів обмежено великою тривалістю аналізу й необхідністю використання великої кількості різних селективних середовищ і реагентів.

Посів на селективне середовище дає змогу кількісно визначати, ізолювати й повністю ідентифікувати життєздатні клітини патогена; однак для отримання результатів потрібно відносно тривалий час від 5 до 14 діб і вимагає занадто багато роботи. До того ж, ефективність залежить від мікробного фону, оскільки ріст колоній збудника може пригнічуватися присутністю інших мікроорганізмів. Наприклад, *Clavibacter* демонструє велику варіабельність характеристик росту на різних селективних середовищах, тому рекомендується використовувати більше одного середовища (табл. 2). Використовуючи середовище SCM, можна виявити наявність однієї зараженої насінини, що містить >50 бактерій, в 10 000 неінфікованих насінинах. Бактерії в насінні томатів були виявлені з використанням як SCM, так і D2ANX. 95 % колоній на обох селективних середовищах дійсно були *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* з рівнями виявлення від 1 до 10 КУО/мл [12].

Нещодавно було введено в діагностику нове середовище: ВСТ, яке дозволяє виявити *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* в присутності високого сапрофітного фону [13].

Для виділення збудника чорної бактеріальної плямистості рекомендується дріжджовий агар з глюкозою і карбонатом кальцію (YGCA), і інші неселективні середовища, такі як середовище Уілбрінка, поживний агар (NA), агар із живильною декстрозою (ND), дріжджовий екстракт-декстроза-карбонат кальцію (YDC). Також можна використовувати агар, агар з поживним бульйоном і дріжджовим екстрактом (NBY) або дріжджовий пептонно-глюкозний агар з добавкою аденіну (YPGA).

Таблиця 2. Селективні середовища для ідентифікації збудників бактеріальних хвороб томатів

Хвороба томатів	Збудник	Середовища для виявлення збудника
Бактеріальний рак	<i>Clavibacter michiganensis</i> <i>subsp. michiganensis</i>	Селективні: SCM, mSCM [13], SCM-fast, D2ANX [12], CNS, BCT [14] Неселективні: YDS [13], NBY [15]
Бактеріальна крапчастість	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	King's B [16]
Чорна бактеріальна плямистість	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	Селективні: CKTM, mMXV, mTMB [17] Неселективні: YGCA, Wilbrink's medium, NA, ND, YDC, NBY, YPGA [18]
М'яка гниль	<i>Pectobacterium carotovorum</i> <i>subsp. carotovorum</i>	CVP, CVPB [19]

Напівселективні середовища, такі як агар СКТМ, mMXV, або агар mTMB, можуть полегшити ізоляцію в зразках, де висока популяція сапрофітів перешкоджає успішному виділенню досліджуваних колоній *Xanthomonas* [17]. На YGCA колонії *X. vesicatoria* яскраво-жовті, круглі, з рівним краєм, вологі і блискучі, слизові і злегка підняті. На інших середовищах колонії виглядають блідо або яскраво-жовтими, круглими, слизовими і злегка піднятими. На середовищі СКТМ колонії виглядають круглими, опуклими, жовтими й оточеними білим кристалічним ореолом. Ізоляти із томатів зазвичай утворюють непрозорі білі ореоли навколо колоній упродовж 3-7 діб. На mTMB колонії *Xanthomonas* жовті, злегка слизові, опуклі і круглі. Використання Tween викликає утворення прозорого ореолу навколо жовтої колонії через 3-7 діб. Для подальшого очищення виділяють окремі колонії з жовтим пігментом і проводять тести необхідні для ідентифікації *Xanthomonas* spp. [18].

Були розроблені різні щільні середовища для виділення *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* із тканин рослин, ґрунту і води, проте до теперішнього

часу тільки одне середовище – CVP – широко використовується в усьому світі. Селективність середовища CVP ґрунтується на присутності кристалічного фіолетового, який пригнічує ріст більшості грампозитивних видів бактерій, і використанні поліпектата в якості єдиного джерела вуглецю [19].

Для прискорення рутинних мікробіологічних аналізів багато компаній пропонують доступні комерційні діагностичні набори відомих мікробіологічних тестів і обробку їхніх результатів за допомогою комп'ютеризованих систем цифрової ідентифікації (табл. 3).

Усі комерційні системи ідентифікації ґрунтуються на одній із п'яти різних технологій або їхні комбінації. До них належать реакції на основі рН, що вимагають від 15 до 24 годин інкубації, реакції на основі ферментів, для яких потрібно від 2 до 4 годин, використання джерел вуглецю, візуальне виявлення росту бактерій або виявлення летких або нелетких жирних кислот за допомогою газової хроматографії [26].

У реакціях на основі рН позитивний результат тесту визначається зміною кольору одного або декількох

барвників. Коли використовується вуглевод, рН стає кислим; коли використовується білок або відбувається вивільнення азотовмісної сполуки, рН стає лужним. На ці реакції впливають розмір посівного матеріалу, час інкубації й температура реакції.

Зміна кольору в системі на основі ферментів відбувається через гідроліз безбарвного комплексу відповідним ферментом із виділенням хромогену або флюорогена. Оскільки час інкубації, необхідний для аналізу ферментативної активності, 6 годин коротший, ніж час інкубації для середовищ на основі рН, випадкове забруднення не є критичним чинником [27].

У третьому типі реакції, використанні джерел вуглецю, відбувається перенесення електронів від органічного продукту на барвник тетразолій фіолетовий, який вводиться в кожную тестову лунку. Це перенесення зумовлює колориметричну зміну барвника, сигналізуючи про посилення клітинного дихання, яке відбувається під час процесу окислення. Ці реакції можуть відбуватися за 4 години.

Четвертий метод – це просте візуальне виявлення росту тест-організму (підвищеної каламутності) у

присутності субстрату. Результати визначаються внаслідок порівняння досліджуваної лунки з контрольною лункою, і для визначення каламутності можна використовувати карту Wickerham і завжди вимагає мінімальної інкубації упродовж 12 годин [26].

У своїх дослідженнях біохімічну ідентифікацію ізолятів *P. syringae* pv. *tomato* I3-9, I3-13, I3-28, I3-46 і *X. vesicatoria* I3-10, I3-11, I3-15, I3-17, I3-20, I3-23, I3-25, I3-30 і I3-31 проводили на стріпах API 20 NE (BioMérieux, Франція), яка включає 8 загальноприйнятих і 12 асиміляційних тестів для ідентифікації невимогливих до умов культивування грамнегативних паличок. Керуючись вищевикладеними результатами біохімічних аналізів виділені ізоляти ідентифіковані як збудник відповідно бактеріальної крапчастості й чорної бактеріальної плямистості.

Нині в Україні переважна більшість лабораторій, які рутинно здійснюють діагностику фітопатогенів, у якості основного методу використовують імунно-ферментний аналіз (ІФА). На сьогодні запропоновано десятки варіантів ІФА, але найпрактичніше значення в діагностиці бактеріальних хвороб має гетеро-

Таблиця 3 – Комерційні набори для ідентифікації збудників бактеріальних хвороб томатів

Збудник	Назва комерційного набору
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	API 50CH (bioMérieux) [20], API ZYM (bioMérieux) [21], Biolog [22]
<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	Biolog, API (bioMérieux) [23], MALDI-TOF MS [24]
<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	API ZYM (bioMérieux), API 20NE (bioMérieux), API 50CH (bioMérieux), BBL DrySlide (Becton, Le Pont de Claix)
<i>Pectobacterium carotovorum</i> subsp. <i>carotovorum</i>	NEFERM-test (Lachema as, Brno), API 20E (bioMérieux), API RapiD 20E (bioMérieux), Crystal E/NF (BD), Enterotube II (BD), EPS (V1107) (bioMérieux), GN2 (Biolog), ID Tri-Panel, ID 32E, Microbact, Micro-ID, RapID onE, RapID SS/u, r/b Enteric, UID/UID-3 [25].

генний твердофазний імуноферментний аналіз (ELISA). Наразі ELISA з mABs застосовують для детекції і внутрішньовидової ідентифікації багатьох шкідливих збудників бактеріальних хвороб рослин, що належать до родів *Clavibacter*, *Pectobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Xanthomonas*, *Acidovorax*, *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia* та *Xylophilus*. Чутливість ELISA для бактерій, як правило, становить 10^5 – 10^6 КУО мл⁻¹, що достатньо для виявлення бактеріальних патогенів в ураженій рослині й серед колоній, вирощених *in vitro*. Однак найнадійніші діагнози вдається поставити, якщо аналізований зразок отримують із зони активного розвитку некрозів, де підтримується високий титр фітопатогену [28].

Серологічні методи визначення також включають у себе метод імунофлюоресценції (IF), непрямого імунофлюоресцентного фарбування колоній (IFC) та імуномагнітну сепарацію (IMS). Для імунофлюоресцентного (IF) аналізу певні бактеріальні клітини прикріплюються до скла мікроскопа через нагрівання або фіксацією спирту. Флуорофор-кон'юговані антитіла зв'язуються з зовнішньою клітинною стінкою і флуоресцентні клітини візуалізуються з використанням епіфлюоресцентної мікроскопії. Рівень виявлення IF становить 10^3 КУО/мл для природно зараженого насіння [29]. Імунофлюоресцентне фарбування колоній (IFC) виявляє тільки живі бактерії і використовує відносно велику кількість антитіл, що робить цей метод дорогим. Однак, перевагою є те, що можна виявити навіть 10 КУО/мл збудника [30], що робить його в сто раз більше чутливим, ніж IF [31].

Метод імуномагнітної сепарації (IMS) ґрунтується на використанні імуномагнітних мікрочастинок, по-

критих специфічними антитілами для захоплення цільових бактеріальних клітин, має поріг виявлення 10 КУО/мл в гетерогенній суміші насіння [32].

Підвищена чутливість і можливість в деяких модифікаціях метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) проводити кількісну оцінку присутності фітопатогенів робить цей метод більш привабливим за діагностики карантинних об'єктів. Наприклад, компанія ТОВ «АгроДіагностика» розробила набори для діагностики ряду карантинних фітопатогенів методом ПЛР із флуоресцентною детекцією результатів (FLASH-ПЛР, ПЛР у реальному часі). Застосування таких діагностичних наборів дозволяє отримати надійні, швидкі й достовірні (специфічність аналізу становить понад 99 %) результати, що забезпечують перевірку підкарантинних матеріалів на наявність об'єктів внутрішнього і / або зовнішнього карантину.

ДНК-діагностика збудників овочевих культур із використанням видів ПЛР: BIO-ПЛР, STS-ПЛР, MLST/MLSA-ПЛР, nested-ПЛР, PRIMSPЛР, real-time ПЛР та мультиплексні ПЛР-тест-системи уможливають ідентифікувати одночасно кілька збудників. Висока чутливість ПЛР-діагностики дозволяє визначати причину бактеріальних хвороб рослин томата на ранніх стадіях розвитку захворювання, зокрема в пробах, що містять 2×10^2 КУО/мл збудника, коли істотної шкоди рослинам ще не завдано [33].

Важливими складовими діагностичної системи є розробка специфічних праймерів для ідентифікації роду і виду фітопатогенних бактерій, для яких специфічними можуть бути ділянки, що кодують так звані чинники патогенності і визначають специфіку ураження рослини-хазяїна (табл. 4-7).

Таблиця 4. Специфічні праймери для діагностичних систем до збудника бактеріального раку

Праймер Цільовий ген	Варіант ПЛР	Зразок	Посилання
<i>C. michiganensis subsp. michiganensis</i>			
CMM-5/CMM-6 Pat-1 gene plasmid DNA	Стандартна	Рослинна тканина та насіння (ДНК екстракція), бактерії (прогріті)	Dreier et al. [34]
CM3/CM4 DNA fragment from a cloned pathogenic isolate	Стандартна	Бактерії (лужний лізис і прогріті), насіння	Santos et al. [35]
CMM5/CMM6 Pat-1 gene plasmid DNA PSA-4/PSA-R 16S-23S rDNA spacer region	Стандартна	Бактерії (прогріті)	Anonymous [36]; Milijasevic et al. [37]
CMM-5/CMM-6 Pat-1 gene plasmid DNA	Стандартна	Бактерії (екстракція ДНК)	Hadas et al. [38]
CM3/CM4 DNA fragment from a cloned pathogenic isolate	BIO	Бактерії (екстракція ДНК)	Hadas et al. [38]

З літературних джерел відомо, що геном *C. michiganensis subsp. michiganensis* включає плазмиди pCM1 (27,5 kb) і pCM2 (72 kb), які кодують гени вірулентності, стійкості проти антибіотиків. Показано, що штами, які не містять плазмід, не зумовлюють інфекційний процес у рослинах томата, хоча здатність до розмноження *in planta* зберігається. Плазміда pCM1 містить ген *celA* і кодує ендо-1,4-глюканазу (целюлазу). Питання щодо важливості *celA* гена для розвитку бактеріального раку була встановлена за умов вивчення *celA* мутантних штамів, які, як і безплазмідні штами, були не вірулентними. Дослідження [34] показали, що плазміда pCM2 містить ген *pat-1*, що кодує білок із 280 амінокислотних залишків, обов'язковий для розвитку *C. michiganensis subsp. michiganensis* в рослинах томата. У своїх дослідженнях зі зразками ДНК, виділеної з ізолятів *C. michiganensis subsp. michiganensis* ІЗ-38, ІЗ-48, ІЗ-51, ІЗ-58, ІЗ-59, ІЗ-60, проводили ПЛР із

парою праймерів CMM5-CMM6 специфічних до маркерної ділянки *pat-1* гена. Наявність продукту ампліфікації 614 н.п. свідчила про належність ізолятів до *C. michiganensis subsp. michiganensis*

Бактерії *P. syringae* pv. *tomato* продукують коронатін, який містить циклопропанове кільце й синтезується із коронафацинової й коронамислової кислот. З'єднуючий фермент являє собою лігазу коронафацинової кислоти, яка кодується *cfl*-геном [40]. Ця реакція характерна для коронатін-продукуючих патогенів *P. syringae* і, відповідно, є специфічним інструментом їхньої ідентифікації. У наших дослідженнях під час проведення ПЛР зі зразками ДНК, виділеної з ізолятів *P. syringae* pv. *tomato* ІЗ-9, ІЗ-13, ІЗ-28 і ІЗ-46 з парою праймерів P1-P2 специфічних до маркерної ділянки *cfl* гена утворювалися ПЛР продукти розміром 650 н.п., що свідчило про присутність у зразках бактерій *P. syringae* pv. *tomato*.

Таблиця 5. Специфічні праймери для діагностичних систем до збудника бактеріальної крапчастості

Праймер Цільовий ген	Варіант ПЛР	Зразок	Посилання
<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>			
MM5F/MM5R hrpZpst gene	Стандартна	Бактерії (прогріті), рослини (екстракція ДНК)	Zaccardelli et al. [39]
RcalFor1/RTRev RAPD fragment 27F/1492R+HSP1/HSP2 16S rDNA+specific to <i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i> Rtimefor/RTRev Probe (molecular beacon)	Стандартна Мультиплексна Real-time	Бактерії, рослини (екстракція ДНК)	Fanelli et al. [40]
P1-P2 <i>cfl</i> - gene	Стандартна	Бактерії, рослини (екстракція ДНК)	Fanelli et al. [40]
cff primer1/cff primer2 Coronatine biosynthesis gene cluster	Стандартна, RFLP	Бактерії (екстракція ДНК)	Bereswill et al. [41]
COR1/COR2 Coronafacic acid cfa7 gene	Стандартна	Чисті культури або рослинна тканина (екстракція ДНК)	Cuppels et al. [42]

Встановлені відмінності в розташуванні та будові *hrp*-генів роду *Xanthomonas*, дали змогу звузити коло пропонованих праймерів для молекулярної діагностики бактеріальної плямистості. Використання тест-систем, праймери яких гомологічні до *hrp*-ділянки генома *X. vesicatoria*, уможливорює забезпечити високу точність та специфічність ідентифікації

збудника [43]. Зі зразками ДНК, виділеної з ізолятів *X. vesicatoria* ІЗ-10, ІЗ-11, ІЗ-15, ІЗ-17, ІЗ-20, ІЗ-23, ІЗ-25, ІЗ-30, ІЗ-31, проводили сайт специфічну ПЛР із парою праймерів RST2-RST3 специфічних до регуляторної ділянки гена *hrp* В. Наявність продукту ампліфікації 840 н.п. свідчило про присутність у зразках бактерій *X. vesicatoria*.

Таблиця 6. Специфічні праймери для діагностичних систем до збудника чорної бактеріальної плямистості

Праймер Цільовий ген	Варіант ПЛР	Зразок	Посилання
<i>X. vesicatoria</i>			
BSX1/BSX2 Genomic DNA (unknown)	Стандартна	Бактерії, рослини (ДНК екстракція)	Cuppels et al. [42]
RST2/RST3 RST9/RST10 hrpB (hypersensitive reaction and pathogenicity gen cluster)	Стандартна	Змиви насіння (екстракція ДНК) (аскорбат натрію та PVPP)	Leite et al. [43]
XCVF/XCVR Rhs-gen	Стандартна	Бактерії (екстракція ДНК)	Dong Suk Park et al. [44]

Таблиця 7. Специфічні праймери для діагностичних систем до збудника м'якої гнилі

Праймер Цільовий ген	Варіант ПЛР	Зразок	Посилання
<i>P. carotovorum subsp. carotovorum</i>			
EXPCCF/EXPCCR Chromosomal DNA (unknown)	Конкурентна	Бактерії (необроблені), рослини (екстракція ДНК)	Kang et al. [45]
INPCCF/INPCCR Nested to EXPCCF/ EXPCCR	Нестед	Бактерії (необроблені), рослини (екстракція ДНК)	Kang et al. [45]
SR3F/SR1cR 16S rRNA gene	Стандартна, RFLP	Бактерії (необроблені), мікророслини	Toth et al. [46]
MpdEc-F/MpdEc-R mpd gene	Real-time (iQ Supermix SBYRGreen)	Рослинна тканина (ДНК екстракція)	Atallah, Stevenson [47]
Y1/Y2 Y family of pectate lyase (pel) genes	Стандартна, RFLP	Бактерії (екстракція ДНК), бактерії (прогріті), росли- ни, ґрунт та вода (екстрак- ція ДНК)	Darrasse et al. [48]; Helias et al. [49]

Починаючи з 1990-х років було розроблено декілька методів, заснованих на ампліфікації ДНК для виявлення видів *Pectobacterium*, а також нові варіанти ПЛР, включаючи мультиплексну ПЛР, ПЛР у реальному часі і LAMP. Darrasse A. et al., сконструйовано специфічні праймери (Y1, Y2) для детектування *pel*-гену відповідального за синтез пектатліази в декількох видів пектолітичних бактерій *P. carotovorum subsp. carotovorum*, *P. carotovorum subsp. odoriferum* і *P. carotovorum subsp. atrosepticum* [48].

Нині ПЛР вважається рутинним методом і рекомендується в більшості протоколів, розроблених Європейським союзом і Європейською та Середземноморською організацією захисту рослин.

Висновки та перспективи.

Отже, комплексне використання мікробіологічних, серологічних та ПЛР-діагностик фітопатогенів ство-

рює передумови для розробки і реалізації в практиці епідеміологічного нагляду за бактеріальними хворобами принципово нових біотехнологічних схем вивчення ареалу розповсюдження збудників і попередження розвитку епіфітотій.

Reference:

1. Peňázová E., Dvořák M., Ragasová L., Kiss T., Pečenka J., Čechová J., Eichmeier A. Multiplex real-time PCR for the detection of *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. tomato and pathogenic *Xanthomonas* species on tomato plants. PLoS One. 2020, 7;15(1), e0227559. doi: 10.1371/journal.pone.0227559
2. Kolomiets JV, Grygoryuk IP, Butsenko LM. Bacterial diseases of tomato plants in terms of open and covered growing of Ukraine. Annals of Agrarian Science. 2017; 15(2): 213–216.
3. De León L, Siverio F, López MM, Rodríguez A. *Clavibacter michiganensis subsp. michi-*

- ganensis, a seedborne tomato pathogen: healthy seeds are still the goal. *Plant Dis.* 2011; 95: 1328–1338. doi: 10.1094/PDIS-02-11-0091
4. Chalupowicz L, Zellermann E-M, Fluegel M, Dror O, Eichenlaub R, Gartemann K-H, et al. Colonization and movement of GFP-labeled *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* during tomato infection. *Phytopathology.* 2012; 102: 23–31. doi: 10.1094/PHYTO-05-11-0135
5. Butsenko, L., Pasichnyk, L., Kolomiets, Y., Kalinichenko, A. (2020) The effect of pesticides on the tomato bacterial speck disease pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *toma-to*. *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(9), 3263. doi:10.3390/app10093263
6. Kolomiets, Y.V., Grygoryuk, I.P. & Butsenko, L.M. (2017) Bacterial diseases of tomato plants. Monograph. Kyiv: CP Kompyrnt, 348 p.
7. Schwartz AR, Potnis N, Timilsina S, Wilson M, Patane J, Martins J, et al. Phylogenomics of *Xanthomonas* field strains infecting pepper and tomato reveals diversity in effector repertoires and identifies determinants of host specificity. *Front Microbiol.* 2015; 6:535. doi: 10.3389/fmicb.2015.00535
8. Agyemang PA., Kabir MdN, Kersey CM, Dumenyo CK. The bacterial soft rot pathogens, *Pectobacterium carotovorum* and *P. atrosepticum*, respond to different classes of virulence-inducing host chemical signals. *Horticulturae* 2020, 6, 13; doi:10.3390/horticulturae6010013
9. Kolomiets, Y., Grygoryuk, I., Butsenko, L., Bohoslavets, V., Blume, Y., Yemets, A. (2020) Identification and biological properties of the pathogen of soft rot of tomatoes in the greenhouse. *Open Agriculture Journal*, 14(1), 290–298. doi:10.2174/1874331502014010290
10. EPPO. EPPO A2 List of pests recommended for regulation as quarantine pests, version 2018–09. 2018 [cited 1 May 2019]. In: European and Mediterranean Plant Protection Organisation [Internet]. Available from: https://www.eppo.int/ACTIVITIES/plant_quarantine/A2_list.
11. Review of the spread of quarantine organisms in Ukraine. Available from: <https://dpss.gov.ua/fitosanitariya-kontrol-u-sferi-nasinnictva-ta-rozsadnictva/fitosanitarnij-kontrol/oglyad-poshirennya-karantinnih-organizmiv-v-ukrayini>.
12. Olivier, V., Baloché, A., Drouin, A., Audusseau, C., Paillard, S., and Soubelet, H. (2010). Internal methods comparison study and inter-laboratory study on *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds1. *EPPO Bull.* 40: 248–256.
13. Sen Y., Wolf J., Visserand R. G. F., Heusden S. (2015) Bacterial Canker of Tomato: Current Knowledge of Detection, Management, Resistance, and Interactions. *Plant Disease*, 99 (1), P. 4–13.
14. Ftayeh, R. M., von Tiedemann, A., and Rudolph, K. W. E. (2011). A new selective medium for isolation of *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* from tomato plants and seed. *Phytopathology*, 101, 1355–1364. doi: 10.1111/j.1365-2338.2010.02380.x
15. Xu, X. L., Miller, S. A., Baysal-Gurel, F., Gartemann, K. H., Eichenlaub, R., and Rajashekara, G. 2010. Bioluminescence imaging of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* infection of tomato seeds and plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 76:3978–3988.
16. Saint-Vincent PMB, Ridout M, Engle NL, Lawrence TJ, Yeary ML, Tschaplinski TJ., Newcombe G, Pelletier DA. (2020) Isolation, characterization, and pathogenicity of two *Pseudomonas syringae* pathovars from *populus trichocarpa* seeds. *Microorganisms*, 8, 1137. doi:10.3390/microorganisms8081137
17. Sijam K, Chang CJ & Gitaitis RD (1992) A medium for differentiating tomato and pepper strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. *Canadian Journal of Plant Pathology* 14, 182–184. doi: 10.1080/07060669209500896
18. OEPP/EPPO, (2013) “PM 7/110 (1) *Xanthomonas* spp. (*Xanthomonas euvesicatoria*)”.

- ria, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper," OEPP/EPPO Bulletin, 43, 7–20. doi: 10.1111/epp.12018
19. Czajkowski R, Pérombelon McM, Jafra S, Lojkowska E, Potrykus M, van der Wolf Jm, Sledz W. (2015) Detection, identification and differentiation of *Pectobacterium* and *Dickeya* species causing potato blackleg and tuber soft rot: a review. *Ann Appl Biol*, 166(1), 18–38. doi: 10.1111/aab.12166.
20. EPPO (2013). *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. OEPP/ EPPO Bull 43, 46–67.
21. Palomo, J. L., Lo´pez, M. M., Garc´ıa-Benevides, P., Vela´zquez, E. & Mart´ınez-Molina, E. (2006). Evaluation of the API 50CH and API ZYM systems for rapid characterization of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*, causal agent of potato ring rot. *Eur J Plant Pathol* 115, 443–451
22. Yasuhara-Bell J, Alvarez AM. (2015) Seed-associated subspecies of the genus *Clavibacter* are clearly distinguishable from *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65, 811–826. doi: 10.1099/ij.s.0.000022
23. Choi O, Kang B, Cho SK. (2017) Identification of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* causing bacterial leaf blight of *Miscanthus sinensis*. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 124, 97–100. doi: 10.1007/s41348-016-0058
24. Datta S, Kumar RS, Ayyadurai N, Kumar S, Sakthivel N. (2004) Polysaccharides of *pseudomonas* pathovar strains that infect pea, tomato, and soya bean. *Curr Microbiol*, 49(1), 35–41. doi: 10.1007/s00284-004-4252-4.
25. O'Hara, C. M. (2005) Manual and automated instrumentation for identification of Enterobacteriaceae and other aerobic Gram-negative Bacilli. *Clin Microbiol Rev.*, 18(1), 147–162. doi: 10.1128/CMR.18.1.147-162.2005
26. O'Hara, C. M., Weinstein M. P., Miller J. M. (2003) Manual and automated systems for detection and identification of microorganisms, p. 185–207. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, J. H. Jorgensen, and R. H. Tenover (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
27. Franco-Duarte R. (2019) Advances in chemical and biological methods to identify microorganisms - from past to present. *Microorganisms*, 7(5), 130. doi: 10.3390/microorganisms7050130
28. Fundamental phytopathology. Ed. Yu. T. Dyakova. M., 2012. 512 p.
29. Olivier V., Baloché A., Drouin A., Audusseau C., Paillard S., Soubelet H. (2010) Internal methods comparison study and inter-laboratory study on *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds1. *EPPO Bull*, 40, 248–256.
30. Veena M. S., van Vuurde J. W. Indirect immunofluorescence colony staining method for detecting bacterial pathogens of tomato. *Journal of Microbiological Methods*. 2002. Vol. 49 (1). P. 7–11.
31. Nemeth J., Vuurde, J. W. L. V. Development of immunofluorescence colony staining (IFC) for detection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds. *Seed Science and Technology*. 2006. Vol. 34. P. 85–100.
32. de Leon L., Siverio F., Rodriguez A. 2006. Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds using immunomagnetic separation. *Journal of Microbiological Methods*. Vol. 67. P. 141–149.
33. Palacio-Bielsa A. (2009) PCR detection and identification of plant-pathogenic bacteria updated review of protocols (1989–2007). *Journal of Plant Pathology*, 91, 249–297.
34. Dreier J., Bempohl A., Eichenlaub R., 1995. Southern hybridization and PCR for specific detection of phytopathogenic *Clavibacter*

- michiganensis subsp. michiganensis. *Phytopathology* 85: 462–468.
35. Santos M.S., Cruz L., Nørskov P., Rasmussen O.F., 1997. A rapid and sensitive detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato seeds by polymerase chain reaction. *Seed Science and Technology* 25: 581–584.
36. Anonymous, 2005a. EPPO Standards PM 7/42 (1) Diagnostics. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 35: 275–284.
37. Miličević S., Todorović B., Balaz J., 2006. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, bacterial canker of tomato: 1. Conventional and molecular identification. *Pesticides and Phytomedicine* 21: 185–192.
38. Hadas R., Kritzman G., Klietman F., Gefen T., Manulis S., 2005. Comparison of extraction procedures and determination of the detection threshold for *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in tomato seeds. *Plant Pathology* 54: 643–649.
39. Zaccardelli M., Spasiano A., Bazzi C., Merighi M., 2005. Identification and in planta detection of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* using PCR amplification of *hrpZPst*. *European Journal of Plant Pathology* 111: 85–90.
40. Fanelli V., Cariddi C., Finetti-Sialer M., 2007. Selective detection of *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* using dot blot hybridization and real-time PCR. *Plant Pathology* 56: 683–691
41. Bereswill S., Bugert P., Völksy B., Ullrich M., Bender C.L., Geider K., 1994. Identification and relatedness of coronatine-producing *Pseudomonas syringae* pathovars by PCR analysis and sequence determination of the amplification products. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 2924–2930
42. Cuppels D.A., Louws F.J., Ainsworth T., 2006. Development and evaluation of PCR-based diagnostic assays for the bacterial speck and bacterial spot pathogens in tomato. *Plant Disease* 90: 451–458.
43. Leite R.P., Jones J.B., Somodi G.C., Min-savage G.V., Stall R.E., 1995. Detection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* associated with pepper and tomato seed by DNA amplification. *Plant Disease* 79: 917–922.
44. Parka D S, Shima J K, Kima J S, Limb C K, Shresthab R, Hahna J H, Kimd H G (2009) Sensitive and specific detection of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* by PCR using pathovar-specific primers based on *rhs* family gene sequences. *Microbiological Research*, 164, 36–42. doi:10.1016/j.micres.2006.11.005
45. Kang H.W., Kwon S.W., Go S.J., 2003. PCR-based specific and sensitive detection of *Pectobacterium carotovorum* ssp. *carotovorum* by primers generated from a URP-PCR fingerprinting-derived polymorphic band. *Plant Pathology* 52: 127–133.
46. Toth I.K., Hyman L.J., Wood J.R., 1999. A one step PCRbased method for the detection of economically important soft rot *Erwinia* species on micropropagated potato plants. *Journal of Applied Microbiology* 87: 158–166.
47. Atallah Z.K., Stevenson W.R., 2006. A methodology to detect and quantify five pathogens causing potato tuber decay using real-time quantitative polymerase chain reaction. *Phytopathology* 96: 1037–1045.
48. Darrasse A., Priou S., Kotoujansky A., Bertheau Y., 1994. PCR and Restriction-Fragment-Lenght Polymorphism of a *pel* gene as a tool to identify *Erwinia carotovora* in relation to potato diseases. *Applied and Environmental Microbiology* 60: 1437–1443.
49. Helias V., Le Roux A.C., Bertheau Y., Andri-von D., Gauthier J.P., Jouani B., 1998. Characterisation of *Erwinia carotovora* subspecies and detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in potato plants, soil and water extracts with PCR-based methods. *European Journal of Plant Pathology* 104: 685–699.

Kolomiets Y.V., Butsenko L.M. (2021). ANALYSIS OF METHODS OF DIAGNOSIS OF BACTERIAL DISEASES OF TOMATOES IN UKRAINE. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 12(1): 16-29. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15093>. <https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.002>.

Annotation. Effective and economical methods of detection and identification necessary for the study of ecology, pathogenesis and limiting the spread of phytopathogenic bacteria, as well as for seed certification programs. The available methods for the detection and identification of four main causative agents of bacterial diseases of tomatoes *Xanthomonas vesicatoria*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*, which are common in Ukraine. These methods include microbiological using selective media, serological, molecular methods based on the amplification of unique DNA sequences. The use of modern biochemical test systems has eliminated the need to identify phytopathogenic bacteria using long-term routine methods. Commercially available commercial test systems provide rapid identification at the species level and also detect new and quarantine pathogens. PCR-based methods have advantages over traditional diagnostic tests because isolates do not need to be cultured before detection and protocols are highly sensitive and fast.

Keywords: bacterial diseases, tomatoes, diagnostic methods, serology, PCR.

ОЦІНКА СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ ГЕТЕРОЗИСУ НА РАННІХ ЕТАПАХ ОНТОГЕНЕЗУ РОСЛИН БУРЯКІВ ЦУКРОВИХ (*BETA VULGARIS L.*)

О. Л. КЛЯЧЕНКО

e-mail: Klyachenko@ukr.net

ORCID ID 0000-0002-4087-4082

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
Київ, Україна

Анотація. Для проведення успішної селекційної роботи зі створення високопродуктивних гібридів буряків цукрових актуальним є дослідження вихідного матеріалу, його різноманітності та господарськоцінних ознак і закономірностей їх успадкування.

Фізіологічний підхід і розроблення шляхів покращення та оцінки популяції за фізіолого-біохімічними показниками сприяє більш глибокому розумінню продукційного процесу. Тому метою нашої роботи було проведення порівняльної фізіолого-біохімічної оцінки показників продукційного процесу різних генотипів буряків цукрових.

Об'єктами досліджень були ЧС гібриди з різною комбінаційною здатністю та інбредні лінії І1–І4 покоління буряків цукрових. Методи проведених досліджень: фізіологічні, біохімічні та статистичні. Установлено генотипні особливості багатонасінних диплоїдних запилювачів за фізіолого-біохімічними показниками окремих ланок метаболізму на ранніх етапах онтогенезу рослин та виявлено вплив інбридингу на фотосинтетичну продуктивність рослин. У простих ЧС гібридів, одержаних за участю комбінаційноцінної за цукристістю ліній О-типу на фоні одного ЧС тестера виявлено високий позитивний гетерозис за ФХА й цукристістю та встановлено позитивну кореляційну залежність між цими ознаками. У гібридних комбінаціях створених при схрещуванні комбінаційноцінних диплоїдних запилювачів на фоні одного ЧС тестера показано позитивний гетерозис за площею листової поверхні, вмістом хлорофілів ($a + b$) та сахарози в коренях.

Ключові слова: буряки цукрові, гетерозис, цукристість, продуктивність.

Вступ.

Пріоритетним завданням вітчизняної науки є створення нового по-

коління високопродуктивних гібридів буряків цукрових, адаптованих до умов довкілля, придатних для енерго- та екологоощадних техноло-

гій вирощування й різних напрямів використання сировини [1]. Успіх селекційної роботи зі створення високопродуктивних гібридів буряків цукрових значною мірою забезпечується генетичною цінністю вихідного матеріалу, його різноманітням та ступенем вивчення генетичної детермінації господарсько цінних ознак і закономірностей їх успадкування [2, 3].

Основною ланкою в селекції буряків цукрових на гетерозис є оцінка і відбір ліній із високою комбінаційною здатністю, що зумовлює в разі їхнього схрещування створення високогетерозисного гібридного потомства [4]. Фізіологічна й біохімічна різноякісність батьківських форм гетерозисних гібридів та їхнє взаємодоповнення за максимальною кількістю властивостей, ознак та окремих ланок метаболізму, які склались у процесі еволюції й під впливом умов вирощування – та основа, на якій у гібридних організмах виникає удосконалений обмін речовин [5].

Фізіологічний підхід і розроблення шляхів покращення та оцінки популяції за фізіолого-біохімічними показниками сприяє більш глибокому розумінню продукційного процесу сільськогосподарських культур у мінливих умовах довкілля та визнаних чинників, які впливають на урожай, що забезпечує теоретичні основи селекції. Розвиток фізіологічних досліджень підвищує ефективність генетичних і генно-інженерних технологій, розширює їхнє завдання і створює нову експериментальну базу [6,7,8].

Стратегією сучасної селекції рослин стає управління продукційними процесами, такими як фотосинтез на різних рівнях його організації [9, 10], оптимізація донорно-акцепторних відносин [11]. Тому актуальним

залишається пошук інформативних фізіолого-біохімічних показників, які пов'язані з продуктивністю в широкому діапазоні умов вирощування й можуть бути використані як фізіологічні й біохімічні маркери для підвищення ефективності селекційного процесу.

Мета роботи – проведення порівняльної фізіолого-біохімічної оцінки показників продукційного процесу різних генотипів буряків цукрових. Об'єктами досліджень були ЧС гібриди з різною комбінаційною здатністю та інбредні лінії I_1 – I_4 покоління буряків цукрових.

Матеріали і методика досліджень.

Дослідження проводилися у 2014–2017 рр на Ялтушківській ДСС. Об'єктами досліджень були багатонасінні лінії-запилювачі, гетерозисні компоненти, прості ЧС гібриди та інбредні лінії I_1 – I_4 покоління буряків цукрових. Рослини вирощували в умовах вегетаційного дослідів методом ґрунтової культури в 14-літрових посудинах Вагнера з внесенням поживної суміші ВНІЦ [12] за оптимального водозабезпечення – 60 % ПВ. Площу листової поверхні, питому масу листків (ПМЛ) і накопичення сухої речовини в органах рослин визначали згідно [13]. Мезоструктурні характеристики листків буряків цукрових установлювали на фіксованому матеріалі за методикою [14] і визначали їх розміри під світловим мікроскопом Carl Zeiss (Німеччина).

Інтенсивність фотосинтезу реєстрували за контрольованих умов на установці, змонтованій на базі оптико-акустичного інфрачервоного газоаналізатора ГІАМ-5М, увімкненого за диференційною схемою. По-

казники газообміну розраховували за стандартними методиками [15]. Уміст хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів визначали в ацетонових екстрактах листків буряків цукрових спектрофотометрично на СФ-46 (Росія) і розраховували за формулами згідно з методикою [16]. Фотохімічну активність хлоропластів (ФХА) оцінювали спектрофотометричним методом за довжини хвилі 420 нм на СФ-46 (Росія) за відновленням фериціаніду калію. Цукристість коренеплодів визначали методом холодної дигестії за Починком [17]. Статистичну обробку одержаних експериментальних даних виконували з використанням електронних таблиць Microsoft Excel.

Результати дослідження та їх обговорення.

Селекціонери зазнають труднощів, особливо під час доборів вихідних комбінаційноцінних матеріалів та прогнозування продуктивності на ранніх стадіях розвитку рослин. Встановлено, що з поміж досліджених 30-денних багатонасінних ліній-запилювачів, коли досягається їхня генетична ідентичність і проявляється найінтенсивніша мінливість, гетерозисний компонент гібриду Ювілейний вирізнявся за характеристиками фотосинтетичного апарату, а саме: вмістом хлорофілів *a*, *b*, каротиноїдів, ФХА хлоропластів, низькими показниками товщини листової пластинки й розмірами її структурних елементів, відношення величини РНК/ДНК і загального білка. Це супроводжувалося найвищою концентрацією сахарози в листках і корені, накопиченням маси сухої речовини рослин та величиною відношення маси кореня й гіпокоотилу до маси листових пластинок,

високою інтенсивністю темного дихання і зниженою активністю ферментів каталази та пероксидази. За визначеними показниками виявлено також істотні генотипні відмінності між диплоїдними багатонасінними сортами – кандидатами для створення гетерозисних ліній-запилювачів, що є важливим у процесі відбору їхніх родоначальних форм.

Проведені нами дослідження простих ЧС гібридів, одержаних за участю ліній закріплювачів стерильності О-типу на фоні одного ЧС тестера на ранніх етапах онтогенезу рослин засвідчують, що вони значно відрізнялися за показниками характеристик фотосинтетичного апарату, господарсько-цінними ознаками й передбачуваним типом їхнього успадкування, розрахованим за Савченко [18].

У результаті проведеної фізіолого-біохімічної оцінки інбредних ліній I_1 – I_4 покоління львівської і верхняцької генплазм комбінаційноцінних за масою й цукристістю встановлено, що за дії інбридингу зменшується товщина листової пластинки внаслідок інгібування росту хлоренхіми (стовпчастої й губчастої паренхіми) – основної фотосинтетичної тканини листка. Вплив інбридингу на фотосинтетичну продуктивність реалізується й через хлоропластогенез (рис.1). Водночас відповідно до глибини інбридингу знижуються показники ПМЛ, ФХА, умісту хлорофілів *a*, *b* і каротиноїдів. Поряд із цим величина відношення хлорофілів *a/b* у інбредних ліній і вихідних гетерозиготних популяцій залишається постійною. Це свідчить, що зміни геному буряків цукрових у процесі селекції не зачепили функціонування системи біосинтезу хлорофілу й активності світлозбиральних комплексів фотосистем I й II.

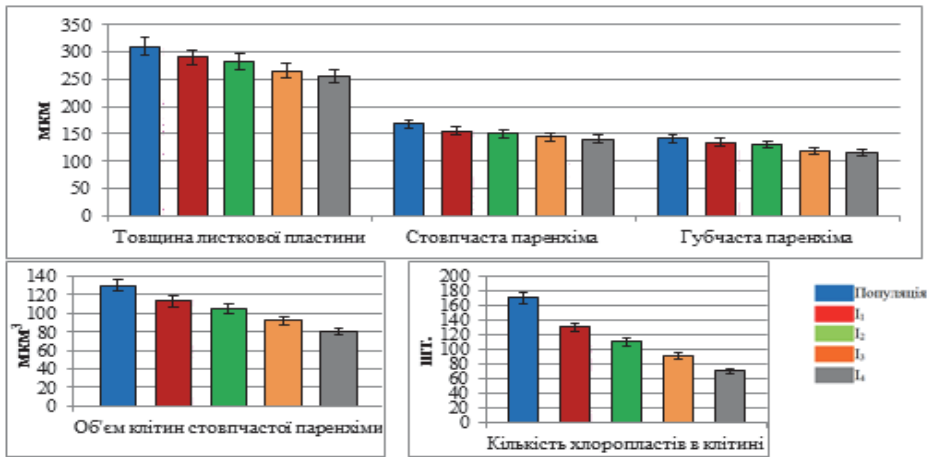


Рис. 1 - Мезоструктурні показники листків інбредних ліній буряків цукрових львовської генплазми.

У результаті досліджень на ранніх етапах онтогенезу рослин простих міжлінійних ЧС гібридів, одержаних за участю різних за комбінаційною здатністю ліній О-типу на фоні одного ЧС тестера встановлено, що в гібриду, одержаного від схрещування з комбінаційноцінною за цукристістю лінією От1, найбільший ефект гетерозису визначено за ознаками ФХА (+50,85 %) і кількістю сахарози в коренях (+9,16), між якими встановлено позитивну кореляційну залежність ($r = 0,55 \pm 0,03$) (табл. 1). Гібрид, створений від схрещування з комбінаційноцінною за масою коренеплоду лінією От2

вирізнявся позитивним гетерозисом за ПМЛ, інтенсивністю фотосинтезу й масою коренеплоду.

Гібрид, одержаний від схрещування з лінією з низькою комбінаційною здатністю за масою й цукристістю коренеплоду От3 проявляв негативний гетерозис за цими ознаками (відповідно -11,24 і -9,5 %) та позитивний гетерозис – за ПМЛ та інтенсивністю фотосинтезу.

За умов аналізу простих міжлінійних пробних гібридів, які створено в сортолінійних схрещуваннях за участю різних за комбінаційною здатністю ди-

1. Ефект гетерозису за низькою ознак у простих ЧС гібридів, %

Ознаки	ЧСхОт1	ЧСхОт2	ЧСхОт3	НІР ₀₅
ФХА	50,85	-3,53	-2,67	7,0
ПМЛ	-8,46	4,70	3,76	3,5
ІФ	-3,54	20,93	14,28	8,5
Хлорофіл а	-18,95	-1,48	-6,69	8,7
Хлорофіл b	3,93	-16,00	-16,00	3,8
Каротиноїди	-6,79	-30,11	-25,39	5,5
Маса коренеплоду	-1,95	32,15	-11,24	10,0
Сахароза	9,16	-3,89	-9,56	1,1

плоїдних багатонасінних ліній-запилювачів на фоні одного ЧС-тестера, виявлено, що в усіх досліджених гібридних комбінаціях проявлявся позитивний гетерозис за вмістом хлорофілів ($a + b$), площею листової поверхні рослин і ПМЛ. Водночас коефіцієнт кореляції між величиною показників останніх становив $r = 0,79 \pm 0,01$. За ознакою ФХА тільки в одній гібридній комбінації фенотипово проявлялось позитивне домінування, а в інших – негативний гетерозис, що, вочевидь, пов'язано з материнським типом успадкування хлоропластів у буряків цукрових, оскільки величина ФХА в ЧС лінії була значно нижчою, ніж у ліній-запилювачів.

За вмістом сахарози в коренях, яка в сортолінійних схрещуваннях на 80 % залежить від комбінаційної здатності батьківських форм, у різних гібридних комбінаціях проявлявся як позитивний, так і негативний гетерозис. Отже, досліджені показники можуть бути використані для характеристики комбінаційної здатності селекційних матеріалів буряків цукрових і прогнозування очікуваного гетерозису на початкових етапах селекційного процесу.

Висновки і перспективи.

Встановлено генотипні особливості багатонасінних диплоїдних запилювачів за фізіолого-біохімічними показниками окремих ланок метаболізму на ранніх етапах онтогенезу та виявлено вплив інбридингу на фотосинтетичну продуктивність рослин. У простих ЧС гібридів, одержаних за участю комбінаційноцінної за цукристістю ліній О-типу на фоні одного ЧС тестера виявлено високий позитивний гетерозис за ФХА й цукристістю та встановлено позитивну кореляційну залежність між

цими ознаками. У гібридних комбінаціях створених під час схрещування комбінаційноцінних диплоїдних запилювачів на фоні одного ЧС тестера показано позитивний гетерозис за площею листової поверхні, вмістом хлорофілів ($a + b$) та сахарози в коренях.

Список використаної літератури

1. Roik M.V., Parfenyuk O.O. Viktoristannya re-kombinantnikh materialiv u selektsii bat-kivskikh komponentiv gibridiv buryakiv tsukrovikh za formoyu koreneplodu. Visnik agrarnoi nauki 2018. 12 (789). 52-58 <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201812-07/>
2. Orlov S.D., Dubchak O.V. Genetichnyi po-tentsial z TsChS liniy tsukrovikh buryakiv. Tsukrovi buryaki. 2017. 1. 6-8.
3. Roik M.V., Korneeva M.O. Napryami. metodi ta strategiya rozvitku selektsii tsukrovikh buryakiv. Tsukrovi buryaki. 2015. 6. 7–9.
4. Balkov I.Ya. Novym etapom v selektsii i se-menovodstve dolzhny stat vysokorenta-belnyye gibridy svekly. Sakharnaya svekla. 2011. 6. 26-27.
5. Konarev V.G. Priroda geterozisa i vozmozhnosti ego prognozirovaniya. Selskohozyay-stvennaya biologiya. 1991. 3. 3 – 12.
6. Parry M.A., Reynolds V., Salvucci M.E. et all. Raising yield potential of wheat. II En-creasing photosyntetic capasity and effi-ciency. J. Exp. Bot. 2011. 62. 2. 453-467. DOI: 10.1093/jxb/erq304
7. Suslov V.I., Logvinov V.A., Mishchenko V.N. Teoriya i prakticheskiye aspekty selektsii sakharnoy svekly. Zbirnik naukovikh prats Institutu bioenergetichnikh kultur i tsukro-vikh buryakiv NAAN. 2012. 13. 126-131.
8. Pryadkina G.O., Morgun V.V. Pigmenti foto-sintetichnogo aparatu i produktivnist ozi-moi pshenitsi. Fiziologiya rasteniy i genetika. 2016. 48. 4. 310-323.
9. Klyachenko O.L. Fiziologo-biokhimichni osobli-vosti inbrednikh liniy tsukrovikh buryakiv. Agrarna nauka i osvita. 2004. 3-4. 28-31.

10. Ctasik O.O., Kiriziy D.A., Pryadkina G.A. Fotosintez i produktivnost selskokhozyaystvennykh rasteniy. Fiziologiya rasteniy i genetika. 2016. 48. 3. 232-251.
11. Kiriziy D.A. Fotosintez i donorno-aktseptornyye otnosheniya mezhdru organami kak sostavlyayushchiye produktsionnogo protsessa pshenitsy. Fiziologiya rasteniy i genetika. 2015. 47. 5. 393-419.
12. Biologiya i selektsiya sakharney svekly. M.: Kolos. 1968. 766.
13. Borisyuk V.A., Klyachenko V.I., Tretyak T.V. Anato-morfologicheskiye i fiziologo-biokhimicheskiye testy pri izuchenii selektsionnykh materialov sakharney svekly (Metodicheskiye ukazaniya). M.: VASKhNIL. 1989. 67.
14. Mokronosov A.T., Borzenkova R.A. Metody kolichestvennoy otsenki struktury i funktsionalnoy aktivnosti fotosinteziruyushchikh tkaney organov. Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii. – 1978. – T. 61. - Vyp.3. – S. 199-131.
15. Fotosintez i produktivnost: metody opredeleniya. [pod redaktsiyey A.T. Mokronosova. A.G. Kovaleva]. – M.: Agropromizdat. - 1989. – 460 s.
16. Musienko M.M., Parshikova T.V., Slavniy P.S. Spektrofotometrichni metody v praktitsi fiziologii. biokhimii ta ekologii roslin. K.: Fitosotsiotsentr. 2001. 201.
17. Pochinok Kh.N. Metody biokhimicheskogo analiza rasteniy. K.: Nauk. dumka. 1976. 333.
18. Savchenko V.K. Geneticheskyy analiz v setevykh probnykh skreshchivaniyakh. Minsk: Nauka i tekhnika. 1984. 51 – 88.

O. L. Klyachenko (2021). EVALUATION OF SELECTION MATERIAL AND FORECASTING OF HETEROSIS IN THE EARLY STAGES OF SUGAR BEET (BETA VULGARIS L.) PLANTS.

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 12(1): 30-35.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15095>.

<https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.005>.

Abstract. To conduct successful selective work aimed at high-yielding sugar beet hybrid creation, it is important to study the source material, its diversity and economically valuable features and patterns of their inheritance. The physiological approach and the development of ways to improve and estimate the population, based on physiological and biochemical indicators contribute to a deeper understanding of the production process. Therefore, the main goal of our work was to conduct a comparative physiological and biochemical evaluation of the production process of different sugar beet genotypes. Research objects were the MS hybrids with different combining ability and inbred lines of the I1 – I4 sugar beet generation. Research methods: physiological, biochemical and statistical. Genotypic features of multi-seeded diploid pollinators by physiological and biochemical parameters of individual metabolic links in the early stages of plant ontogenesis were established and the influence of inbreeding on photosynthetic productivity of plants was revealed. In simple MS hybrids obtained with the participation of combinational (by sugar content) O-type line comparing to one MS tester, a high positive heterosis in PHA and sugar content and a positive correlation between those traits were found. In hybrid combinations created by crossing combinational diploid pollinators compared to one MS tester showed positive heterosis in leaf surface area, chlorophyll content ($a + b$) and sucrose in the roots.

Keywords: sugar beet, heterosis, sugar content, productivity.

ЧУТЛИВІСТЬ ФІТОПАТОГЕННИХ І БУЛЬБОЧКОВИХ БАКТЕРІЙ СОЇ ДО МІКРОЕЛЕМЕНТНИХ ПРЕПАРАТІВ, ОТРИМАНИХ МЕТОДАМИ ЕЛЕКТРОІМПУЛЬСНОЇ АБЛЯЦІЇ

**О. О. КРАВЧЕНКО¹, Н. В. ЖИТКЕВИЧ², Т. Т. ГНАТЮК²,
В. В. БОРОДАЙ¹, В. В. ЧОБОТАР¹**

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України,
Київ, України

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України

Анотація. Якісні та кількісні характеристики врожаю сої значною мірою залежать від ефективності заходів проти збудників хвороб, у тому числі спричинених фітопатогенними бактеріями, які призводять до втрати 30-40% врожаю зерна. Одним з елементів біологізації є використання мікроелементних препаратів за вирощування сої. Робота присвячена визначенню чутливості високоактивних штамів бульбочкових бактерій і представників збудників бактеріозів сої до мікроелементних препаратів Добродій Комфорт та Добродій Комфорт-Мідь, які отримані методами електроімпульсної абляції, та порівняння їхньої дії з хімічними пестицидами Ранкона, Максим XL, Ридоміл Голд, Пропульс, які використовуються в технологіях вирощування зазначеної культури. У роботі використано класичні мікробіологічні, фітопатологічні, статистичні методи. Зокрема, достовірність впливу чинників встановлювали за величиною рівня ймовірності «р», який розраховували за допомогою програми STATISTICA 8. Встановлено, що жовтопігментні збудники бактеріозів сої проявляли високу чутливість до препаратів Добродій Комфорт та Добродій Комфорт-мідь у нативній формі. Збудник кутастої плямистості сої не чутливий до даних композицій. Виявлено, що препарати Добродій Комфорт та Добродій Комфорт-мідь є нетоксичними для бактерій роду *Bradyrhizobium*. За результатами титрування препаратів доведено, що дія дослідних препаративних форм на фітопатогенні бактерії зберігається в діапазоні 10⁻³- 10⁻⁴ - 10⁻⁵. Уперше проаналізовано й рекомендовано екологічні препарати Добродій-Комфорт та Добродій Комфорт-Мідь, за відсутності антибактеріальної активності в разі зазначеного розведення та токсичної дії на бульбочкові бактерій, використовувати в системі захисту сої від бактеріальних хвороб.

Ключові слова: бульбочкові бактерії, мікроелементні препарати, пестициди, соя, токсичність, фітопатогенні бактерії.

Вступ.

Соя – є однією з головних білково-олійних культур із широким спектром застосування в харчовій, кормовій, технічній та медичній галузях. Економічна та екологічна доцільність вирощування сої роблять ринок цієї культури серед найважливіших для сільськогосподарського виробництва України (Петриченко та ін., 2016). Водночас якісні та кількісні характеристики врожаю значною мірою залежать від ефективності заходів проти збудників хвороб сої, у тому числі спричинених фітопатогенними бактеріями, які, за даними моніторингу, призводять до втрати 30-40 % врожаю зерна (Патика та ін., 2015) [1-2].

Ще однією особливістю та невід’ємною складовою вирощування зернобобових культур є інокуляція насіння. Показано, що ступінь реалізації генетичного потенціалу рослин, інтенсивність росту та розвитку рослин сої опосередковано залежить від ефекту після інокуляції високоефективними штамми бульбочкових бактерій (Hungria et al, 2020) [3].

Серед різноманіття сучасних сполук значного поширення в сільському господарстві, ветеринарії й медицині набули карбоксилати біоматеріалів, отримані методами електроімпульсної абляції (Кравченко, Максим, 2016) [4].

Під терміном «лазерна абляція» розуміють процес видалення речовини під впливом лазерного випромінювання з поверхні. Метод імпульсної лазерної абляції був розроблений в 1960-х роках із появою рубінового лазера імпульсного принципу дії (Miller, J. C., 2013). Такі технології отримання матеріалів і колоїдних розчинів ґрунтуються на абляції поверхні матеріалів внаслідок сублімації речовини з поверхні

під дією енергії, що вводиться в матеріал, і конденсації перенасиченої пари в частинки різного розміру за швидкого охолодження перенасиченої пари у відповідному середовищі (Толстомятов, 2016). Основними перевагами методу лазерної абляції є відсутність побічних домішок; низька собівартість експериментальних установок і простота контролю процесу абляції; можливість формування метастабільних фаз (Kanitz et al, 2019).

Різноманіття матеріалів і покриттів, які отримуються методом електроімпульсної абляції, зумовлює їхнє широке застосування в якості напівпровідникових приладів, електродів, зносостійких і теплоізоляційних покриттів, каталізаторів, сенсорних пристроїв, функціональних біоматеріалів тощо [4-7].

Доведено, що карбоксилати біоматеріалів, отримані методами електроімпульсної абляції проявляють ефективність, як за профілактики й захисту рослин від певних патогенів, так і у випадках ураження сільськогосподарських культур комплексом фітопатогенів за передпосівної обробки насіння, профілактичній обробці вегетуючих рослин (Новицька та ін. 2013) [8].

Тому скринінг новітніх препаратів, які можна було б використовувати для знезараження із сумісним або паралельним застосуванням за інокуляції сої бульбочковими бактеріями, є актуальною проблемою сучасної екології (Araujo et al, 2017; Gomes et al, 2017) [9, 10], що й зумовило вибір теми та визначення мети роботи.

Отже, **метою роботи** було визначення чутливості високоактивних штамів бульбочкових бактерій і представників шкідливих бактеріозів сої до мікроелементних препаратів Добродій Комфорт та Добродій Ком-

форт-Мідь, які отримані методами електроімпульсної абляції, та порівняння їхньої дії з низкою традиційних хімічних пестицидів.

Матеріали і методи дослідження

На першому етапі дослідження проведено визначення чутливості низки представників фітопатогенних бактерій – збудників бактеріозів сої до препаратів Добродій Комфорт та Добродій Комфорт-Мідь, та порівняння активності з хімічними пестицидами. Використано оцінку антагоністичної дії, яка застосовується у відділі фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України (далі ІМВ НАН України) [11]. Перелік фітопатогенних бактерій наведено в таблиці 1:

Бактеріальні культури були отримані з колекції відділу фітопатогенних бактерій ІМВ НАНУ.

На сьогодні не існує препаратів, які зареєстровані і використовуються в сільському господарстві проти фітопатогенних бактерій (Буценко, Пирог, 2018; Ващенко та ін., 2009) [12, 13]. Однак пошуки таких препаратів тривають. Одним із напрямів сучасних досліджень є визначення бактерицидної дії препаратів хімічної природи, які вже широко використовуються в рослинни-

цтві як пестициди. Тому, для оптимізації процесів захисту рослин від бактеріозів, проводяться визначення чутливості колекційних та новоізолюваних штамів фітопатогенних бактерій до відомих препаратів, які застосовуються в сільському господарстві в системі інтегрованого захисту рослин для порівняння із новоствореними. Отже, для порівняння використано препарати, які зазвичай застосовуються за вирощування сої: Ранкона, Максим XL, Ридоміл-Голд і Пропульс [2, 14].

Для визначення чутливості збудників бактеріозів сої на щойно засіяний «газон» досліджуваних бактеріальних культур наносили краплі розчину пестициду, у кількості 0,1 мл у центр картопляної пластинки з бактеріальною тест-культурою. Вимірювання зони затримки росту бактерій проводили за допомогою міліметрової лінійки та штангенциркулю.

Відсутність затримки росту вказувала на резистентність мікроорганізмів до даної концентрації препарату. Зони, діаметр яких не перевищував 15 мм, свідчили про слабку чутливість до препарату. Зони затримки росту від 15 до 25 мм фіксувалися в чутливих мікроорганізмів, високочутливі характеризувалися зонами з діаметром понад 25 мм. Досліди проводили з потрійним повторенням, визначали середнє арифметичне відхилення [15, 16].

Таблиця 1. Перелік фітопатогенних бактерій, взятих для аналізу

Збудник	Хвороба сої
<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i>	Кутаства плямистість листя сої
<i>Pantoea agglomerans</i>	Бактеріальна смугастість стебла сої
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i>	Іржаво-бура плямистість сої
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	Пустульний бактеріоз
<i>Xanthomonas fuscans</i> subsp. <i>fuscans</i>	Чорна дрібна плямистість

Подальшим етапом дослідження було визначення чутливості бульбочкових бактерій до дії всіх препаратів. У роботі використані високоактивні роди *Bradyrhizobium japonicum* (штами М-8 та 634 6), *Rhizobium phaseoli* (штами 79 та ФК-6) та *Rhizobium leguminosarum* (штам 31).

Для визначення граничної концентрації токсичної дії препаратів на тест-культури проведена титрація розчинів за традиційною методикою [15, 17]. У першу пробірку вносили нативні розчини препаратів Добродій комфорт та Добродій комфорт-мідь. Подальшу серію розведень готували на рідкому поживному середовищі (МПБ) у такий спосіб, щоби кожна наступна концентрація була в 10 разів меншою за попередню. Після приготування низки розведень в усі пробірки вносили по 0,2 см³ зависі досліджуваної тест-культури (з розрахунку $2 \cdot 10^6$ бактерій на 1 см³ рідини). Штатив із розведеннями інкубували за температури 35 °С. Для розрахунків використовували пакети програм *Statistica*, *Microsoft Excel-365*. Зокрема, достовірність впливу чинників встановлювали за величиною рівня ймовірності «р», який розраховували за допомогою програми *Statistica* 8.

Результати дослідження та їх обговорення:

Результати дослідження щодо визначення дії дослідних препаративних форм у нативному стані на фітопатогенні бактерії (d-мм) представлені в таблиці 2:

Отже, виявлено, що препарат Пропульс не має антибактеріальної активності щодо всіх досліджених штамів. Проведені дослідження свідчать, що збудники кутастої плямистості листя сої та бактеріальної смуга-

стості стебла сої були резистентними до препаратів Ранкона та Максим XL. Щодо *Curtobacterium flaccumfaciens*, то вони були резистентні до препарату Ранкона та мали слабку чутливість до препарату Максим XL. Антибактеріальну активність у рекомендованій дозі щодо всіх представлених штамів виявляв лише Ридоміл-Голд (діюча речовина – металаксил + манкоцеб), що узгоджується з літературними даними [16, 18].

Отримані результати свідчать про високу чутливість жовтопигментних збудників бактеріозів сої до препаратів Добродій Комфорт та Добродій Комфорт-мідь у нативній формі.

Збудник кутастої плямистості сої не чутливий до даних композицій. Результати проведеного дослідження узгоджуються з літературними даними щодо особливої стійкості бактерії роду *Pseudomonas* навіть на фоні загальної малочутливості збудників бактеріозів до різноманітних хімічних елементів та їхніх комплексів (зокрема, міді).

Варто звернути увагу на результати дослідження щодо зони затримки росту збудника пустульного бактеріозу. Згідно з літературними джерелами, підвищений уміст екзо- та ендосахаридів, який притаманний клітинам цього роду *Xanthomonas*, запобігає проникненню хімічних агентів. Збудник проявляв стійкість до препарату «Комфорт», і водночас був чутливий до препарату «Комфорт-мідь». Отже, найімовірніше, висока чутливість у цьому випадку зумовлена дією міді.

Крім того, необхідно відмітити, що обидва препарати проявляли найбільшу антибактеріальну активність до збудника бактеріальної плямистості стебла сої серед усіх досліджених препаратів.

Таблиця 2. Чутливість бактеріальних збудників хвороб сої до препаратів фунгіцидної дії

Препарати, Збудники, штами	<i>Pseudomonas savatanoi</i> pv. <i>glyciniae</i> шт. IMB B-9190	<i>Pantoea agglomerans</i> шт. IMB B-8490	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> шт. IMB B-9249	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glyciniae</i> IMB B-9192	<i>Xanthomonas fuscans</i> subsp. <i>fuscans</i> IMB B-9283
Ридоміл-Голд	15 б/ц	15 б/ц	45 б/ц	35 б/ц	38 б/ц
Максим XL	0	0	15 б/ц	30 б/ц	30 б/ц
Пропульс	0	0	0	0	0
Ранкона	0	0	0	35 б/ц	35 б/ц
Добродій Комфорт-мідь	0	35 б/ц	30 б/ц	35 б/ц	30 б/ц
Добродій Комфорт	0	35 б/ц	45 б/ц	0	50 б/ц

Примітки: активність дії препарату визначається по зоні затримки або знищення росту патогена у d-мм; б/ц – бактерицидна дія, 0 (відсутність дії препарату) – суцільний ріст бактеріальної культури.

Подальшим етапом дослідження було визначення чутливості бульбочкових бактерій до дії дослідних препаратів. Результати дослідження представлені в таблиці 3:

Виявлено, що пестициди різного походження переважно не виявляють токсичної дії до бульбочкових бакте-

рій у лабораторних умовах. До таких пестицидів можна віднести Ранкона, Максим XL (табл. 3). Їх можна рекомендувати до сумісного або паралельного застосування за інوکуючії насіння сої вказаним штамом і препаратів на його основі. Водночас Ридоміл-Голд, не зважаючи на його високу антибактеріальну активність, виявляє високу токсичну дію до всіх досліджених штамів. Фунгіцид Пропульс теж є токсичним до даних бактерій, але дещо в нижчій формі. Отже, Ридоміл та Пропульс не можна застосовувати сумісно або паралельно з інوکуюцією насіння бульбочковими бактеріями.

Щодо препаратів Добродій Комфорт та Добродій Комфорт-мідь, то вони є нетоксичними для бактерій роду *Bradyrhizobium* та *Rhizobium*. Отже, висока антибактеріальна активність і одночасно, відсутність дії щодо бактерій інোকуюнтів, роблять ці препарати перспективними для застосування щодо захисту сої на всіх етапах.

У таблиці 4 представлені результати впливу різних концентрацій пре-

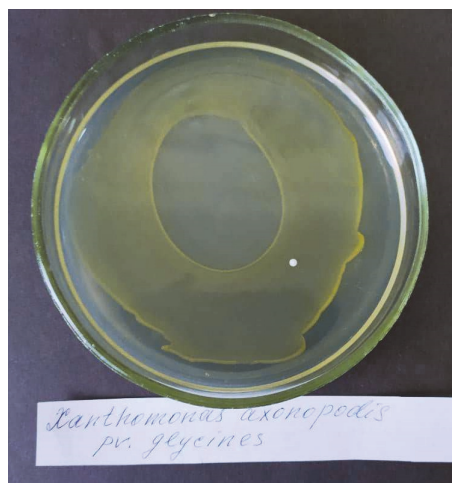


Рис 1 – Зона затримки росту *Xanthomonas axonopodis* pv. *glyciniae* IMB B-9192 за дії препарату Добробут-Комфорт

Таблиця 3. Визначення чутливості бульбочкових бактерій до дії дослідних препаратів

Дослідний препарат	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , шт. М-8	<i>Rhizobium leguminosarum</i> шт.31	<i>Bradyrhizobium japonicum</i> , шт.634 Б	<i>Rhizobium phaseoli</i> , шт.79	<i>Rhizobium phaseoli</i> , шт.ФК-6
	Діаметр зон пригнічення росту.				
Ридоміл	45 б/ц	38 б/ц	38 б/ц	30 б/ц	36 б/ц
Максим XL	0	0	0	0	0
Пропульс	25 б/ц	15 б/ц	28 б/ц	15 б/ц	18 б/ц
Ранкона	0	0	0	0	0
Добродій Комфорт-мідь	0	0	0	0	0
Добродій Комфорт	0	0	0	0	0

Примітки: активність дії препарату визначається по зоні затримки або знищення росту патогена у д-мм; б/ц – бактерицидна дія, 0 (відсутність дії препарату) – суцільний ріст бактеріальної культури.

паратів торгової марки Добродій на ріст збудників бактеріозів сої.

За результатами титрації препаратів (табл. 4) визначено, що дія дослідних препаративних форм на фітопатогени зберігається в діапазоні

10^{-3} - 10^{-4} та в одному варіанті - 10^{-5} . Вважаємо отримані результати позитивними, адже вони співпадають із тими, що, як правило, отримають під час титрації суто хімічних пестицидів.

Таблиця 4. Вплив різних концентрацій двох дослідних препаратів на ріст збудників бактеріозів сої

Тест-штами	Титр препарату										
	Препарат	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	10^{-9}	10^{-10}
<i>Pantoea agglomerans</i> шт. IMB B-8490	Добродій Комфорт-мідь	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	Добродій-комфорт	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> pv. <i>flaccumfaciens</i> шт. IMB B-9249	Добродій Комфорт-мідь	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
	Добродій-комфорт	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i> шт. IMB B-9192	Добродій Комфорт-мідь	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
	Добродій комфорт	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітки: «-» - відсутність росту культури внаслідок бактерицидної дії препарату; «+» - ріст культури не припиняється. [(10^{-1}) 1:10; (10^{-2}) 1:100; (10^{-3}) 1:1000; (10^{-4}) 1:10000 і т.д.]

Висновок.

Отримані результати дії препаратів Добродій-Комфорт та Добродій Комфорт-мідь свідчать про значну дію на бактеріальні фітопатогени сої. Крім того, збереження антибактеріальної активності за значного розведення та відсутність токсичної дії на бактерій-інокулянтів роблять ці препарати перспективними аналогами традиційних хімічних сполуку системі захисту сої.

Список літератури

1. Петриченко, В. Ф., Патики, В. П., Пасічник, Л. А., Житкевич, Н. В., Гуляєва, Г. Б., Токовенко, І. П., ... & Пиди, С. В. (2016). Хвороби сої: моніторинг, діагностика, захист. Монографія. <http://dspace.pdaa.edu.ua:8080/handle/123456789/373>.
2. Патики, В., Гнатюк, Т., & Житкевич, Н. (2015). Збудники бактеріальних хвороб сої та їх моніторинг. Вісник аграрної науки, 93(6), 15-19. DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201506-03>.
3. Hungria, M., Nogueira, M. A., Campos, L. J. M., Menna, P., Brandi, F., & Ramos, Y. G. (2020). Seed pre-inoculation with Bradyrhizobium as time-optimizing option for large-scale soybean cropping systems. *Agronomy Journal*, 112(6), 5222-5236. DOI: 10.1002/aj2.20392.
4. Кравченко, О. А., & Максим, В. И. (2016). Особенности поведения и аккумуляции наноаквацитратов меди и цинка в гидрозкосистемах. *Микроэлементы в медицине*, 17(4), 44-48. DOI: 10.19112/2413-6174-2016-17-4-44-48
5. Miller, J. C. (Ed.). (2013). *Laser ablation: principles and applications* (Vol. 28). Springer Science & Business Media – 187 pages. https://books.google.com.ua/books/about/Laser_Ablation.html?id=zB_yCAAQBAJ&redir_esc=y
6. Толстомятов, Е. М. (2016). Лазерная абляция полимеров (обзор). *Полимерные материалы и технологии*, 2(1), 6-20. Режим доступу: <https://www.mpri.org.by/assets/files/pmt2/1/tolstopyatov.pdf>
7. Kanitz, A., Kalus, M. R., Gurevich, E. L., Ostendorf, A., Barcikowski, S., & Amans, D. (2019). Review on experimental and theoretical investigations of the early stage, femtoseconds to microseconds processes during laser ablation in liquid-phase for the synthesis of colloidal nanoparticles. *Plasma Sources Science and Technology*, 28(10). DOI: 10.1088/1361-6595/ab3dbe
8. Новицька, Н. В., Пилипчук, М. Ю., & Ситар, О. В. (2013). Врожайність як інтегральний показник ефективності застосування нанометалів у технології вирощування сої. Вісник Полтавської державної аграрної академії, (4), 32-36. DOI: <https://doi.org/10.31210/visnyk2013.04.08>
9. Araujo, R. S., Cruz, S. P. D., Souchie, E. L., Martin, T. N., Nakatani, A. S., Nogueira, M. A., & Hungria, M. (2017). Preinoculation of soybean seeds treated with agrichemicals up to 30 days before sowing: Technological innovation for large-scale agriculture. *International journal of microbiology*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5914786>
10. Gomes, Y. C. B., Dalchiavon, F. C., & Valadão, F. C. D. A. (2017). Joint use of fungicides, insecticides and inoculants in the treatment of soybean seeds. *Revista Ceres*, 64(3), 258-265. DOI <https://doi.org/10.1590/0034-737x201764030006>
11. Патики В.П., Пасічник Л.А., Гвоздяк Р.І та ін (2017). Фітопатогенні бактерії. Методи досліджень: монографія. Т. 2; за ред. В.П. Патики. Вінниця: Віндрук, 432 с.
12. Буценко Л.М., Т. П. Пирог (2018). Біотехнологічні методи захисту рослин : Київ : Ліра-К, 2018, 345 с.
13. Ващенко Л.М., Пасічник Л.А., Ходос С.Ф., Карева І.О. (2009). Ефективність фунгіцидів для боротьби з бактеріозом зернових культур. Збірник наукових праць селекційно-генетичного інституту Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення. 2009; 13(53):200–208. Ре-

- жим доступу https://old.sgi.in.ua/images/Vidanna_institutu/Zbirnik_naykovih_prac/Arhiv/Zb13532009.pdf#page=101
14. Ящук, В. У., Ващенко, В. М., Корецький, А. П., Кривошея, Р. М., & Чайковська, В. В. (2016). Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. Режим доступу: http://www.menr.gov.ua/media/files/Articles/DerjReestr2011_040112.doc
 15. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Методичні вказівки МВ 9.9.5-143-2007. Офіційне видання. – Київ, – 2007. Режим доступу <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0167282-07#Text>
 16. Palyka, V., Buletsa, N., Pasichnyk, L., Zhitkevich, N., Kalinichenko, A., Gnatiuk, T., & Butsenko, L. (2016). Specifics of pesticides effects on the phytopathogenic bacteria. *Chem Eng S.* 2016; 23(2):311–331. DOI: 10.1515/eces-2016-0022
 17. Wikler, M. A. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. CLSI (NCCLS), 26, M7-A7. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m07/>
 18. Петриченко, В. Ф., Корнійчук, О. В., Пасічник, Л. А., Буценко, Л. М., Житкевич, Н. В., Гнатюк, Т. Т., & Патики, В. П. (2013). Бактеріальні хвороби сільськогосподарських рослин і пестициди. *Вісник аграрної науки*, (4), 21-26. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/vaan_2013_4_6

O.O. Kravchenko, N.V. Zhitkevich, T.T. Hnatiuk, V. V. Borodai, V.V. Chobotar (2021).

SENSITIVITY OF PHYTOPATHOGENIC AND NODULE BACTERIA OF SOYBEANS TO MICROELEMENTS PREPARATIONS OBTAINED BY ELECTROPULSE ABLATION. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 12(1): 36-43. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15096>. <https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.004>.

Abstract. Qualitative and quantitative characteristics of soybean yields largely depend on the effectiveness of measures against pathogens caused by phytopathogenic bacteria, which lead to the loss of 30-40% of grain yield. One of the elements of biologization is the use of trace elements in the cultivation of soybeans. The work has been devoted to determining the sensitivity of highly active strains of nodule bacteria and representatives of pathogens of soybean bacteriosis to trace elements preparations Dobrodiy Comfort and Dobrodiy Comfort-Copper, which were obtained by electropulse ablation, and comparing their action with traditional chemical pesticides. For comparison, the drugs of traditional cultivation of soybeans have been used: Rankona, Maxim XL, Rydomil Gold, Propuls. Classical microbiological, phytopathological, statistical method has been used in the work. In particular, the reliability of the influence of factors has been established by the value of the probability level "p", which was calculated using the program STATISTICA 8. The obtained results have indicated a high sensitivity of yellow pigment pathogens of soybean bacteriosis to preparations Dobrodiy Comfort and Dobrodiy Comfort-copper in native form. The causative agent of angular spot of soybeans has not been sensitive to these compositions. Study have shown that Dobrodiy Comfort and Dobrodiy Comfort-copper are non-toxic to bacteria of the genus *Bradyrhizobium* and *Rhizobium*. According to the results of preparations titration, work has been determined that the effect of these preparations on phytopathogens remains in the range of 10⁻³-10⁻⁴. According to the For the first time absence of antibacterial activity at the specified dilution and toxic effect on nodule bacteria, the use of ecological drugs Dobrodiy-Comfort and Dobrodiy Comfort-Copper in the system of soybean protection against bacterial diseases has been analyzed and recommended.

Keywords: Antibacterial activity, soybeans inoculation, microelements, electropulse ablation, toxicity.

ЕКОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ ТВАРИННИЦЬКИХ КОМПЛЕКСІВ ЗА ЯКІСТЮ ПІДЗЕМНИХ ВОД (НА ПРИКЛАДІ СВИНОКОМПЛЕКСУ № 11 СП ТОВ «НИВА ПЕРЕЯСЛАВЩИНИ»)

В. А. СЕРДЮК, В. І. МАКСІН

Національний університет біоресурсів і природокористування України,

03041, Україна, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15

ORCID – 0000-0003-0791-5396. Сердюк В.А.

ORCID – 0000-0001-8903-6744. Максін В.І.

Анотація. Сільське господарство, особливо тваринництво, вважається однією з найбільш забруднюючих довкілля галузей у світі, але чи дійсно за сучасного підходу до використання технологій, вплив на довкілля настільки критичний і неминуче веде до екологічної катастрофи. Важливо об'єктивно дослідити й науково обґрунтувати вплив сучасних тваринницьких комплексів на довкілля, а саме на підземні водні ресурси, і тільки за низки досліджень, проведених на свинокомплексах, потужністю 30 та 50 тис голів на рік визначити: тваринництво – об'єкт надінтенсивного забруднення довкілля чи об'єкт, який не чинить суттєвого негативного впливу на довкілля і являється до того ж економічним і продовольчим важелем країни, на прикладі компанії СП ТОВ «НИВА ПЕРЕЯСЛАВЩИНИ», що знаходиться на території двох районів Київській області – Броварського та Бориспільського.

Розмір санітарно-захисної зони становить 2000 м до найближчої житлової забудови (Міністерство охорони здоров'я України, 1996). Проекти зі скорочення санітарно-захисної зони не розроблялися, оскільки відсутня потреба.

Дослідження якості води проводилися відповідно до Державних санітарних норм та правил «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною» (ДСанПіН 2.2.4-171-10) (Держводагентство України, 2010) на пробах, відібраних із 4 артезіанських свердловин, що розташовуються на території свинокомплексу № 11. Для виявлення впливу діяльності свинокомплексу № 11 на підземний водоносний горизонт та поверхневий водний об'єкт згідно з вимогами, встановленими у висновку з оцінки впливу на довкілля, були відібрані проби води з колодязів та річки. Проведені впродовж 2020 року дослідження

показали, що якість води у свердловинах відповідає вимогам, встановлених до питної води. Проби води з колодязів та ставка показали відхилення від норми до 10 разів. Попередні дослідження не встановили негативного впливу діяльності свиногокомплексу № 11 на якість підземних вод.

Ключові слова: забруднення довкілля, підземні води, план екологічного моніторингу, тваринницькі комплекси, якість води.

Вступ.

Зростаюча чисельність населення призводить до збільшення попиту на воду. Водночас зміна клімату впливає на запаси води та спричиняє збільшення залежності від підземних вод. У багатьох місцях підземні води виснажуються швидше, ніж поповнюються, погіршується їхня якість (Megdal, 2018). Підземні води є важливим і вирішальним компонентом для всіх видів діяльності (Mohamed, 2019), мають важливе значення для забезпечення водою сільських та міських громад у багатьох країнах світу (Adimalla, Li, & Venkatayogi, 2018; Adimalla, Vasa, & Li, 2018). Наразі забруднення підземних вод є головною проблемою, яка представляє серйозну загрозу для довкілля (Adimalla, Li, & Qian, 2018; Adimalla, & Li, 2018; Adimalla, & Rajitha, 2018).

Антропогенна діяльність погіршує якість води через скид побутових та промислових (виробничих) стічних вод у поверхневі водні об'єкти через каналізаційні системи, а також широке використання добрив, пестицидів у сільському господарстві (Mohamed A. K., Liu, Mohamed M. A., & Song, 2018; Kareem, Mustafa & Merkel, 2018). Ці чинники відіграють основну роль у спричиненні погіршення якості підземних вод через різні хімічні компоненти, що призводять до змін якості води та придатності її для використан-

ня. У даний час проведені численні дослідження з оцінки придатності підземних вод для побутового та промислового (виробничого) використання (Agoubi, 2016).

Більшість із методів не можуть чітко визначити забруднювачів води (Li, 2017).

Водночас оцінка хімічних характеристик підземних вод має вирішальне значення для кращого прогнозування їхнього використання. Загальновідомо, що використання ресурсів підземних вод тісно пов'язане з їхніми геохімічними властивостями (Ntanganedzeni, 2018; Celestino, 2018; Li, 2018; Yuan, 2017).

Знання геохімічного стану підземних вод у посушливих та напівзасушливих регіонах може призвести до стійкого розвитку та ефективного управління цими водними ресурсами. Аналіз якості води є важливим для вивчення та використання підземних вод (Ndoye, 2018).

Сільське господарство, особливо тваринництво потребує великої кількості води на виробничі потреби: на напування, санітарне утримання тварин, до того ж витрати води на рослинництво мають сезонний характер, а тваринництво – потребує цілорічного водозабезпечення у великій кількості. Водночас утворюється чимала кількість відходів: гній та стоки від прибирання місць утримання тварин (Захаренко, 2015).

Для того щоби дослідити вплив відходів тваринництва, вони ж побічні продукти тваринного походження, на якість підземних вод та попередити забруднення природних ресурсів необхідно здійснювати контроль якості згідно зі встановленим планом. Розробка плану стосується вибору ділянок, кількості моніторингових свердловин, конкретних параметрів та частоти відбору проб, які є корисними для виявлення джерела та поширення забруднення. Необхідно визначитися з вибором відповідного місця, характеристикою ділянки, близькістю тваринницьких приміщень та питних колодязів чи свердловин, а також належним зберіганням, утриманням приміщень та межами внесення гною, щоби мінімізувати вимивання нітратів у підземні води (Sahoo, 2016).

У разі недотримання зон санітарної охорони водозабору та санітарно-захисної зони тваринницького комплексу існує ризик мікробіологічного забруднення підземних вод через вимивання рідкої фракції гною в ґрунтові води або вздовж кожуха погано побудованої свердловини (Sasakova, 2018).

З огляду на те, що свинокомплекс № 11 побудований у 2019 році, дослідження впливу комплексу на якість підземних вод проводився вперше, відповідно до розробленого плану післяпроектного моніторингу для тваринницьких комплексів та проведено оцінку стану підземних вод.

Мета: провести оцінку впливу свинокомплексу на стан підземних вод згідно з планом післяпроектного моніторингу та попередити забруднення природних вод відходами тваринницьких комплексів.

Матеріали і методи дослідження.

Свинокомплекс № 11 із закінченим виробничим циклом перебуває за межами населеного пункту с. Гостролуччя Броварського району Київської області. Продуктивність комплексу становить 50 тисяч голів свиней на рік, тобто відбувається постійне відтворення поголів'я тварин. Технологія вирощування та відгодівлі тварин за основу прийнята датської компанії «Visang Agro».

На території свинокомплексу розміщено: свинарник для запліднення – 1 будівля; свинарник для запліднення та супоросу – 1 будівля; свинарник для очікування – 2 будівлі; свинарник для проведення опоросів – 2 будівлі; свинарник для проведення опоросів – 1 будівля; свинарник для дорошування – 3 будівлі; свинарники-відгодівельники – 9 будівель, переходу галереєю – 1 будівля; будівлю прийому й відвантаження свиней – 1 будівля; систему видалення гною, що складається із самотпливної системи видалення до 2-х приймальних рідинозбірників ємністю по 75 м³ з насосами, 8-ми гноєсховищ корисним об'ємом 6534,5 м³ кожне та 2-х карантинних ємностей гною – корисний об'єм яких складає 75 м³ кожна; твердопаливна котельня, що працює на соломі – 2 контейнера заводського виготовлення; дизбар'єр («чиста» дорога – 2 шт.); дизбар'єр («брудна» дорога – 2 шт.); септик двокамерний 2 шт.; дизель-генератор (аварійний); артезіанські свердловини (4 шт.); очисні споруди виробничо-дошових вод. Свинарники розташовані окремими будівлями, котрі з'єднанні між собою перехідною галереєю. Тварини утримуються бузвигульно, у секціях групових або індивідуальних станках.

Гній зі свинарників видаляється в жижезбірники й далі в гноєсховище, городжене бетонними панелями. Жижезбірники розміщені біля стін корпусів згідно з вимогами норм технології виробництва. Викачка та вивезення гною із гноєсховищ здійснюється цистерною-прицепом. Гній вноситься на поля культиватором для внесення добрив, зуби культиватора занурюють рідкий гній на глибину 15 сантиметрів, де він зброджується. «Брудна» дорога (під'їзд до гноєсховища) та «чиста» дорога (внутрішні дороги свинокомплексу) не перетинаються.

У південно-східній частині свинокомплексу розташовані свердловини, зони санітарної охорони водозаборів I поясу становлять 30 м та огорожені сітчастими панелями. Під час діяльності свинокомплексу утворюються: гній – 46625 т/рік, падіж тварин – 233,677 т/рік, стічні води, побутові відходи – 2,550 т/рік, сміття від прибирання території – 53,006 т/рік, зола з твердопаливної котельні – 17,095 т/рік, осад із септика – 0,840 т/рік, уловлені нафтопродукти від локальних очисних споруд (зливова каналізація) – 115,256 т/рік, використані фільтруючі елементи та осад виробничих очисних споруд – 1882,115 т/рік (Робоча документація, 2019).

Водопостачання свинокомплексу здійснюється за рахунок 4 свердловин, забір води здійснюється із водоносного горизонту еоценових відкладів. Існує ймовірність забруднення підземного експлуатаційного водоносного горизонту та горизонтів, що залягають вище та нижче через порушення герметичності оголовки та обсадних колон свердловин, а також забруднення ґрунтів та ґрунтових вод – «верховодки» через недостатність герметичності конструкцій септика, колодязів, лотків та колекторів.

Якість води з підземних джерел (артезіанських свердловин) досліджували за фізико-хімічними та бактеріологічними показниками (щоквартально впродовж 2020 року) із 4 свердловин свинокомплексу № 11, 5 колодязів (колодязь № 1 с. Гостролуччя (північна частина), с. Гостролуччя (центр), колодязь № 2 с. Гостролуччя (північна частина), с. Перемога, с. Перше Травня), 1 проби із поверхневого водного об'єкта (річка Трубіж у межах с. Перше Травня) у 3 кварталі 2020 року (рис.1). Глибина свердловин становить: № 1 – 80 м, № 2 – 84 м, № 3 – 84 м, № 4 – 84 м. Глибина колодязів приблизно 30 м.

За вибору спостережних точок (колодязів та поверхневої водойми) за межами комплексу керувалися гідрогеологічною картою (Гідрогеологічна карта України, 2017). Гідрогеологічна карта вказує на розподіл, формування й залягання підземних вод. Згідно з картою визначили направленість потоку підземних вод відносно свинокомплексу (комплекс має бути вище направленості підземного водного потоку), щоби найбільш доцільно розташувати точки відбору проб та визначити вплив комплексу на якість вод.

Свинокомплекс № 11 побудований згідно з ДБН А.2.2-3-204 «Генеральні плани сільськогосподарських підприємств» (ДБН А.2.2-3-204, 2004), ДСП №173-96 «Державних санітарних правил планування та забудови населених пунктів». Розмір санітарно-захисної зони для свинокомплексу № 11 становить 2000 м від будівлі свинокомплексу, що розташовується на межі території до житлових забудов. Проекти зі скорочення санітарно-захисної зони не розроблялися, оскільки відсутня необхідність, адже до межі найближчого населено-



Рис. 1. Точки відбору проб води. Точка № 1 – свинокомплекс № 11 (свердловини №№ 1-4 – точки 1.1; 1.2; 1.3; 1.4). Точка № 2 – колодязь № 1 с. Гостролуччя (північна частина). Точка № 3 – с. Гостролуччя (центр). Точка № 4 – колодязь № 2 с. Гостролуччя (північна частина). Точка № 5 – с. Перемога. Точка № 6 – с. Перше Травня. Точка № 7 – поверхневий водний об’єкт (річка Трубіж в межах с. Перше Травня).

го пункту (с. Гостролуччя) відстань становить 2870 м.

Показники кольоровості, запаху та мутності води визначають згідно з ГОСТ 3351–74. Відбір проб – ГОСТ 24481. Досліджують пробу на визначення кольоровості та запаху води органолептичним методом. Каламутність води визначають фотометричним методом – через порівняння проб досліджуваної води зі стандартними суспензіями.

Водневий показник визначають згідно з ДСТУ 4077-2001, електрометричним методом.

Кальцій та магній визначають згідно з ДСТУ ISO 11885-2005, методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв’язаною плазмою.

Вміст поліфосфатів у воді визначають згідно з ГОСТ 18309-72 колориметричним методом.

Вміст сульфатів у воді визначають згідно з ГОСТ 4389-72 комплексонометричним методом. Відбір проб – ГОСТ 2874 і ГОСТ 24481.

Вміст хлоридів у воді визначають згідно ГОСТ 4245-72. Відбір проб – ГОСТ 2874 і ГОСТ 24481. Визначення хлор-іона визначають методом титрування азотнокислим сріблом.

Уміст аміаку та іонів амонію в питній воді визначають згідно з ГОСТ 4192–82. Відбір проб – ГОСТ 24481–80. Досліджують пробу методом визначення масової концентрації аміаку та іонів амонію (сумарно).

Уміст нітратного азоту в питній воді визначають згідно з ГОСТ 18826–73. Проби води відбирають за ГОСТ 2874 чи ГОСТ 4979. Досліджують пробу колориметричним методом із саліциловокислим натрієм.

Вміст нітритів у питній воді визначають згідно з ГОСТ 4192–82. Відбір проб – ГОСТ 24481–80. Досліджують пробу методом визначення масової концентрації нітритів.

Вміст загального заліза в питній воді визначають згідно з ГОСТ 4011–72. Відбір проб води – ГОСТ 2874 і ГОСТ 24481. Досліджують пробу методом вимірювань масової концентрації загального заліза із сульфосаліциловою кислотою.

Загальну жорсткість досліджують згідно з ГОСТ 4151–72. Відбір проб води – ГОСТ 2874 і ГОСТ 4979. Досліджують пробу комплексонометричним методом визначення загальної жорсткості.

Загальну кількість мікроорганізмів (МАФМ) визначають згідно з МВ 10.2.1-113-2005 методом флуоресціюючих антитіл.

Показник умісту *e. coli* визначають згідно з МР 10.10.21-155-2008 методом мембранної фільтрації.

Загальні колиформи (БГКП) визначають згідно з МВ 10.2.1-113-2005 методом флуоресціюючих антитіл.

Показник вмісту ентерококів визначають згідно з Методичними вказівками із санітарно-мікробіологічного аналізу води поверхневих водойм, затверджених наказом МЗ СРСР від 19.01.81 N 2285-81, титраційним методом із використанням лужного поліміксинового середовища.

Дослідження проводили згідно розробленого та погодженого плану (лист-погодження Міністерства захисту довкілля та природних ресурсів України № 25/5–21/597–21 від 14.01.2021 р.) післяпроектного моніторингу відповідно до висновку з оцінки впливу на довкілля.

Результати дослідження та їх обговорення.

Одним з останніх свиногокомплексів побудованих та введених в експлуатацію став комплекс № 11, що розташований поблизу села с. Гостролуччя (перебуває за межами населеного пункту на відстані 2870 м), Броварського р-ну, Київської області. Відповідно до висновку з оцінки впливу на довкілля авторами статті був розроблений план післяпроектного моніторингу та погоджений із Міністерством захисту довкілля та природних ресурсів України, до компетенції яких належить узагальнена координація та організація державного моніторингу вод.

ПЛАН ПІСЛЯПРОЕКТНОГО МОНІТОРИНГУ ДЛЯ СПІЛЬНОГО УКРАЇНСЬКО-ВЕЛИКОБРИТАНСЬКОГО ТОВАРИСТВА З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ «НИВА ПЕРЕЯСЛАВЩИНИ»:

Вимога здійснення післяпроектного моніторингу – 1) Визначити вплив на підземні водоносні горизонти та ґрунти в місцях розташування гноєсховища та майданчиків зберігання відходів. 2) Фізико-хімічний аналіз води.

Термін виконання заходу – щоквартально.

Перелік робіт. Огляд місця розташування гноєсховища та майданчиків зберігання відходів, у разі виявлення розливів, підтікання, забруднення ґрунту чи підземного водоносного горизонту – ремонт гноєсховища та ліквідація забруднення. Проведення фізико-хімічного аналізу води.

Забруднюючі речовини які контролюються – 1. Кольоровість. 2. Запах. 3. Водневий показник (рН). 4. Загальна жорсткість. 5. Кальцій. 6. Магній. 7. Поліфосфати (за PO_4). 8. Сульфати. 9.

Хлориди. 10. Амоній. 11. Нітрати. 12. Нітри. 13. Каламутність.

Точки відбору – 1) 1 точка відбору; 2) 4 свердловини (4 точки відбору).

Виконання вимірювань:

1-2, 13 ГОСТ 3351-74. Вод питьевая. Методы определения вкуса, запаха, цветности и мутности. ДСТУ ISO 7027-2003. Якість води. Визначання каламутності (ISO 7027:1999, IDT).

3. ДСТУ 4077-2001. Якість води. Визначення рН.

4. ГОСТ 4151-72. Вода питьевая. Метод определения общей жесткости.

5-6. ДСТУ ISO 11885-2005. Якість води. Визначення 33 елементів методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою (ISO 6777:1984, IDT).

7. ГОСТ 18309-72. Вода питьевая. Метод определения содержания полифосфатов.

8. ГОСТ 4389-72. Вода питьевая. Методы определения содержания сульфатов.

9. ГОСТ 4245-72. Вода питьевая. Методы определения содержания хлоридов.

10. ГОСТ 4192-82. Вода питьевая. Методы определения минеральных азотсодержащих веществ.

11. ГОСТ 18826-73. Вода питьевая. Методы определения содержания нитратов.

12. ГОСТ 4192-82. Вода питьевая. Методы определения минеральных азотсодержащих веществ.

2. Вимога здійснення післяпроектного моніторингу – Спостереження за якістю води через проведення відбору проб на нітратне забруднення, хімічний, бактеріологічний та радіологічний контроль).

– Перелік робіт – Бактеріологічний контроль води.

Термін виконання заходу – щопівроку.

Забруднюючі речовини, які контролюються:

1) Загальна кількість мікроорганізмів (МАФАМ); 2) E.coli; 3) Загальні колиформи (БГКП); 4) Ентерококи. 5) Патогенні ентеробактерії.

Точки відбору – 4 свердловини.

Виконання вимірювань:

1.1. Методичні вказівки. МВ 10.2.1-113-2005. Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води, затверджені наказом МОЗ від 03.02.2005 N 60.

1.2. Методичні рекомендації. МР 10.10.21-155-2008. Визначення найбільш вірогідного числа мікроорганізмів у воді з використанням тестів діагностичних Quanti-Disk та SimPlate, затверджені наказом МОЗ від 14.03.2008 N 138.

2.1. Методичні вказівки. МВ 10.2.1-113-2005. Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води, затверджені наказом МОЗ від 03.02.2005 N 60.

2.2. Методичні рекомендації. МР 10.10.2.1-137-2007. Застосування тестових наборів COLILERTR-18 для санітарно-бактеріологічного контролю якості води, затверджені наказом МОЗ від 24.01.2007 N 24.

3.1. Методичні вказівки. МВ 10.2.1-113-2005. Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води, затверджені наказом МОЗ від 03.02.2005 N 60.

3.2. Методичні рекомендації. МР 10.10.2.1-137-2007. Застосування тестових наборів COLILERTR-18 для санітарно-бактеріологічного контролю якості води, затверджені наказом МОЗ від 24.01.2007 N 24.

4. Методичні вказівки із санітарно-мікробіологічного аналізу води поверхневих водоемів, затверджені наказом МЗ СССР від 19.01.81 N 2285-81.

5. Методичні вказівки. МВ 10.2.1-113-2005. Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води, затверджені наказом МОЗ від 03.02.2005 N 60.

3. Вимога здійснення післяпроектного моніторингу – створити мережу контрольних спостережень за складом поверхневих і підземних вод (включно з колодязями, які розташовані на території найближчої житлової забудови до об'єкта планованої діяльності).

Термін виконання заходу – щоквартально.

Перелік робіт. Мережа контрольних спостережень за складом поверхневих і підземних вод.

Точки відбору – 5 колодязів (колодязь № 1 с. Гостролуччя (північна частина), с. Гостролуччя (центр), колодязь № 2 с. Гостролуччя (північна частина), с.Перемога, с. Перше Травня), 1 проби із поверхневого водного об'єкта (річка Трубіж у межах с. Перше Травня).

Аналіз води та виконання вимірювань тотожні із дослідженнями води зі свердловин за фізико-хімічними показниками.

Відповідно до плану післяпроектного моніторингу проводилися ла-

бораторні дослідження. Результати вимірювання якості підземних вод представлені в таблиці 1.

Як видно з таблиці 1, результати показників якості води із 4 свердловин, що розташовані на території свинокомплексу № 11 упродовж досліджуваного періоду – 2020 року мали відхилення по показникам:

- колірності у I (свердловини №№ 1-4) та IV (свердловини № 1 та № 4) кварталах від 0,5 до 3 разів;
- запаху за 60 оС в III (свердловини № 2 та № 3) та IV (свердловина № 4) кварталах у 1,5- 2 рази;
- каламутності в I кварталі за свердловиною № 4 у 2,5 рази та IV кварталі за свердловинами № 3 та № 4 – у 2 рази.
- заліза загального спостерігалось перевищення в I кварталі за свердловиною № 4 в 3 рази, в II кварталі у свердловинах №№ 1-2 та № 4 незначне перевищення, у свердловині № 3 у 1,4 рази, у IV кварталі у свердловині № 2 було перевищення заліза у 2 рази, у свердловині № 3 – у 6,7 рази, у свердловині № 4 – в 14 разів;
- азоту амонійному у IV кварталі по свердловинах № 3 та № 4 у 2-3 рази.

1. Результати дослідження якості підземних вод зі свердловин свинокомплексу № 11 за 2020 рік

Найменування показників	Результати вимірювань															
	I квартал				II квартал				III квартал				IV квартал			
	1.1*	1.2	1.3	1.4	1.1	1.2	1.3	1.4	1.1	1.2	1.3	1.4	1.1	1.2	1.3	1.4
Колірність	28,0	33,3	26,7	48,7	8,0	14,0	10,7	7,3	16,0	19,3	18,0	22,7	47,3	19,3	20,0	60,0
Запах при 60 °С, бали	1	0	0	2	2	2	1	1	0	3	3	2	1	0	0	4
Каламутність, мг/дм ³	1,82	1,71	1,70	6,46	1,34	1,71	2,44	1,34	1,95	1,95	2,07	1,95	0,98	1,59	4,76	4,39
Залізо загальне, мкг/дм ³	124	39,0	109	609	207	207	275	224	86	71	122	56	122	456	1341	2825
Азот амонійний, мгN/дм ³	0	0	0	0	0,02	0	0,34	0	0	0	0	0	0	0	0,88	1,57

*1.1; 1.2; 1.3; 1.4 – Точки відбору проб води зі свердловини.

2. Дослідження якості води колодязів та поверхневого водного об'єкта, що розташовані найближче* до свиногокомплексу № 11 (3 квартал 2020 року)

Найменування показників	Норматив, мг/м ³	№ 2**	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	№ 7
Колірність	20	5	3	2	2	3	42
Запах при 20 °С, бали	2	2	2	2	1	2	2
Запах при 60 °С, бали	2	3	2	2	1	2	4
Каламутність, мг/дм ³	2,6	2,1	1,1	1,9	1,7	1,3	21
Водневий показник (рН)	6,5-8,5	7,45	7,6	7,3	7,8	7,5	62,35
Залізо загальне, мкг/дм ³	200	90	120	310	115	235	120
Свинець, мкг/дм ³	10	5,0	4,5	0,4	5,7	2,0	0,9

*, **точка № 2 – колодязь № 1 с. Гостролуччя (північна частина) на відстані 3300 м від свиногокомплексу; точка № 3 – с. Гостролуччя (центр) – 4430 м; точка № 4 – колодязь № 2 с. Гостролуччя (північна частина) – 3480; точка № 5 – с. Перемога – 3350 м; точка № 6 – с. Перше Травня – 4980 м; точка № 7 – поверхневий водний об'єкт (річка Трубіж в межах с. Перше Травня) – 6040 м.

Усі інші показники, у тому числі й мікробіологічні, знаходяться в межах встановленої норми для питної води, визначеними Державними санітарними нормами та правилами «Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною» (ДСан-ПіН 2.2.4-171-10).

Якість підземних вод колодязів та поверхневого водозабору, що розташовані найближче до житлових забудов наведена в таблиці 2. Згідно з умовами, встановленими у висновку з оцінки впливу на довкілля, дослідження проводилися в 3 кварталі 2020 року, періодичність дослідження визначена 1 раз на рік.

Як видно з таблиці 2, якість води із п'яти колодязів відповідає встановленим нормам до питної води. За показниками мікробіологічного дослідження відібрані проби відповідають встановленим нормам. Щодо річки Трубіж у межах с. Перше Травня, спостерігається перевищення показників за колірністю (забарвленості) у 2 рази та водневого показника майже в 10 разів.

Висновки і перспективи.

За результатами проведених лабораторних вимірювань показників складу та властивостей проб води з підземних джерел за 2020 рік, а саме чотирьох артезіанських свердловин, що розташовані на території свиногокомплексу № 11, виявлено невідповідності (перевищення) за показниками колірності (0,5 до 3 разів), запаху за 60 оС (1,5- 2 рази), каламутності (2-2,5 рази), загального заліза (від 1,4 до разів) та азоту амонійному (2-3 рази). Простежується тенденція, що перевищення показників води з підземних джерел було у свердловинах № 3 та № 4 в I та II кварталах, найбільше – у IV кварталі.

Що стосується якості води із п'яти колодязів, то вона відповідає встановленим вимогам до питної води. Вода із річки Трубіж у межах с. Перше Травня показала перевищення за показником колірності у 2 рази та водневого показника майже в 10 разів. Показники мікробіологічного дослідження, нітрати та нітроти перебувають у межах допустимих значень.

З огляду на те, що забір води здійснюється із водоносного горизонту еоценових відкладів (глибина свердловин 80-84 м), котрому характерні відклади вапняків, мергелів, глини, пісковиків та ін., то перевищення показників колірності, каламутності, загального заліза та азоту амонійного має природний характер – для приведення показників якості води до вимог питної, необхідно додатково встановити стаціонарні фільтри для очистки води.

Заходи, які попереджають негативний вплив комплексу на поверхневі та підземні води:

- наявність твердого покриття площадок і доріг з ухилом водозбору та водозбірними колекторами, щоби попередити стікання стічних вод самопливом, використовуючи рельєф місцевості (заборонено);
- герметичність з'єднань систем зовнішніх інженерних мереж та систем очистки побутової, виробничої й дощової каналізації, належне технічне обслуговування;
- створення санітарно-захисної зони суворого режиму I поясу радіусом 30 м навколо свердловин, що включає в себе: відведення поверхневого стоку, озеленення, огороження, щоденний огляд, для виявлення технічної несправності свердловини чи джерела забруднення підземних вод, заборона будь-якого будівництва, крім того, що має відношення до свердловини, аналіз отриманих лабораторних досліджень;
- будівництво та експлуатація свердловин згідно з діючими ДБН та інструкціями, вчасне обслуговування та дезінфекція свердловин – суворе виконання санітарно-технічних вимог;
- своєчасне, по мірі утворення, вивезення твердих та рідких відходів на утилізацію чи видалення;
- посилена герметизація підземних споруд, комунікацій свинокомплексу.

Для спостереження за якістю та оцінкою стану підземних вод на майданчику комплексу, передбачається в якості спостережних свердловин використовувати 4 експлуатаційні свердловини.

Дотримання зазначених заходів, як видно з проведених лабораторних досліджень, попереджає забруднення поверхневих водойм і підземних водних ресурсів стоками та відходами свинокомплексу.

Література:

1. Державні санітарні правила планування та забудови населених пунктів. (1996). ДСП №173-96. Київ, Україна: Державні санітарні правила МОЗ України. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0379-96#Text>
2. Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною. (2010). ДСанПІН 2.2.4-171-10. Київ, Україна: Державні санітарні норми та правила МОЗ України. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0452-10#Text>
3. Megdal, S.B. (2018). Invisible water: the importance of good groundwater governance and management. npj Clean Water, 1 (15). <https://doi.org/10.1038/s41545-018-0015-9>.
4. Mohamed, A.K., Dan, L., Kai, S., Eldaw, E., & Abualela, S. (2019). Evaluating the suitability of groundwater for drinking purposes in the North Chengdu Plain, China. E3S Web of Conferences, 81:01006. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20198101006>.
5. Adimalla, N., Li, P., & Venkatayogi, S. (2018). Hydrogeochemical Evaluation of Groundwater Quality for Drinking and Irrigation Purposes and Integrated Interpretation with Water Quality Index Studies. Envi-

- ron. *Process.*, 5, 363–383. <https://doi.org/10.1007/s40710-018-0297-4>.
6. Adimalla, N., Vasa, S.K., & Li, P. (2018). Evaluation of groundwater quality, Peddavagu in Central Telangana (PCT), South India: an insight of controlling factors of fluoride enrichment. *Model. Earth Syst. Environ.*, 4, 841–852. <https://doi.org/10.1007/s40808-018-0443-z>.
7. Adimalla, N., Li, P., & Qian, H. (2018). Evaluation of groundwater contamination for fluoride and nitrate in semi-arid region of Nirmal Province, South India: A special emphasis on human health risk assessment (HHRA). *Hum Ecol Risk Assess Int J.*, 1-18. <https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1460579>.
8. Adimalla, N., & Li P. (2018). Occurrence, health risks, and geochemical mechanisms of fluoride and nitrate in groundwater of the rock-dominant semi-arid region, Telangana state, India. *Hum Ecol Risk Assess Int J.*, 1-23. <https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1480353>.
9. Narsimha, A., & Rajitha, S. (2018). Spatial distribution and seasonal variation in fluoride enrichment in groundwater and its associated human health risk assessment in Telangana State, South India. *Hum. Ecol. Risk Assess. Int. J.*, 24, 2119–2132. <https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1438176>.
10. Mohamed, A.K., Liu, D., Mohamed, M.A.A., & Song, K. (2018). Groundwater quality assessment of the quaternary unconsolidated sedimentary basin near the Pi river using fuzzy evaluation technique. *Appl Water Sci.*, 8 (65). <https://doi.org/10.1007/s13201-018-0711-0>.
11. Kareem, A., Mustafa, O., & Merkel, B. (2018). Geochemical and environmental investigation of the water resources of the Tanjero area, Kurdistan region, Iraq. *Arab J Geosci.*, 11 (461). <https://doi.org/10.1007/s12517-018-3825-7>.
12. Agoubi, B., Souid, F., Kharroubi, A., & Abdallaoui, A. (2016). Assessment of hot groundwater in an arid area in Tunisia using geochemical and fuzzy logic approaches. *Environ Earth Sci.*, 75 (1497). <https://doi.org/10.1007/s12665-016-6296-8>.
13. Li, Z., Zhou, B., Teng, D., Yang, W., & Qiu, D. (2017). Comprehensive evaluation method of groundwater environment in a mining area based on fuzzy set theory. *Geosystem Eng.*, 1-10. <https://doi.org/10.1080/12269328.2017.1386594>.
14. Ntanganedzeni, B., Elumalai, V., & Rajmohan, N. (2018). Coastal Aquifer Contamination and Geochemical Processes Evaluation in Tugela Catchment, South Africa-Geochemical and Statistical Approaches. *Water*, 10 (6), 687. <https://doi.org/10.3390/w10060687>.
15. Celestino, A.E.M., Cruz, D.A.M., Sanchez, E.M.O., Reyes, F.G., & Soto, D.V. (2018). Groundwater Quality Assessment: An Improved Approach to K-Means Clustering, Principal Component Analysis and Spatial Analysis: A Case Study. *Water*, 10 (4), 437. <https://doi.org/10.3390/w10040437>.
16. Li, X., Wu, H., Qian, H., & Gao, Y. (2018). Groundwater Chemistry Regulated by Hydrochemical Processes and Geological Structures: A Case Study in Tongchuan, China. *Water*, 10 (3), 338. <https://doi.org/10.3390/w10030338>.
17. Yuan, J., Xu, F., Deng, G., Tang, Y., & Li, P. (2017). Hydrogeochemistry of Shallow Groundwater in a Karst Aquifer System of Bijie City, Guizhou Province. *Water*, 9 (8), 625. <https://doi.org/10.3390/w9080625>.
18. Ndoeye, S., Fontaine, C., Gaye, C.B., & Razack M. (2018). Groundwater Quality and Suitability for Different Uses in the Saloum Area of Senegal. *Water*, 10 (12), 1837. <https://doi.org/10.3390/w10121837>.
19. Захаренко, М. О., Яремчук, О. С., Шевченко, Л. В., Поляковський, В. М., Михальська, В. М., Малюга, Л. В., & Коваленко, В. О. (2015). Біотехнологія відходів тваринницьких підприємств. Монографія: Київ, Україна. Режим доступу: <http://repository.vsa.u.org/getfile.php/19557.pdf>

20. Sahoo, P. K., Kim, K., & Powell, M. A. (2016). Managing Groundwater Nitrate Contamination from Livestock Farms: Implication for Nitrate Management Guidelines. *Curr Pollution Rep*, 2, 178–187. <https://doi.org/10.1007/s40726-016-0033-5>
21. Sasakova, N., Gregova, G., Takacova, D., Mojzisova, J., Papajova, I., Venglovsky, J., Szaboova, T. & Kovacova, S. (2018). Pollution of Surface and Ground Water by Sources Related to Agricultural Activities. *Front. Sustain. Food Syst.* doi: 10.3389/fsufs.2018.00042.
22. Будівництво свиногомплексу № 11 з закінченим виробничим циклом відгодівлі 50-ти тисяч голів свиней на рік за межами населеного пункту с. Гостролуччя, Баришівської селищної ради, Баришівського району, Київської області. (2019). Робоча документація: Київ, Україна, 1133 с. Режим доступу: <http://eia.menr.gov.ua/en/case/id-4040>
23. Грачов А. (2017). Гідрогеологічна карта України. Карта: Київ, Україна. Режим доступу: <https://geomap.land.kiev.ua/water.html>
24. Генеральні плани сільськогосподарських підприємств. (2004). ДБН А.2.2-3-204. Київ, Україна: Державні будівельні норми України.
25. Вода питьевая. Методы определения вкуса, запаха, цветности и мутности. (1974). ГОСТ 3351-74. Москва: Межгосударственный стандарт. Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data/363/36376.pdf>
26. Вода питьевая. Отбор проб. (1980). ГОСТ 24481-80. Москва: Межгосударственный стандарт. Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data/456/45652.pdf>
27. Якість води. Визначення рН. (2001). ДСТУ 4077-2001. Київ, Україна: Державний Стандарт України. Режим доступу: http://online.budstandart.com/ru/catalog/doc-page?id_doc=52791
28. Якість води. Визначення 33 елементів методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою (ISO 6777:1984, IDT). (2005). ДСТУ ISO 11885-2005. Київ, Україна: Державний Стандарт України. Режим доступу: https://budstandart.ua/normativ-document.html?id_doc=51733&minregion=852
29. Вода питьевая. Метод определения содержания полифосфатов. (1972). ГОСТ 18309-72. Москва: Межгосударственный стандарт. Режим доступа: <http://vsegost.com/Catalog/17/17680.shtml>
30. Вода питьевая. Методы определения содержания сульфатов. (1972). ГОСТ 4389-72. Москва: Межгосударственный стандарт. Режим доступа: http://online.budstandart.com/ru/catalog/doc-page?id_doc=48298
31. Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством. (1982). ГОСТ 2874-82. Москва: Межгосударственный стандарт. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200038442>
32. Вода питьевая. Методы определения содержания хлоридов. (1972). ГОСТ 4245-72. Москва: Межгосударственный стандарт. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200008214>
33. Вода питна. Методи визначення мінеральних азотвмісних сполук. (1982). ГОСТ 4192-82. Москва: Міждержавний стандарт. Режим доступу: <http://www.opengost.ru/iso/3969-gost-4192-82-voda-pitevaya-metody-opredeleniya-mineralnyh-azotsoderzhaschih-veschestv.html>
34. Вода питна. Методи визначення масової концентрації загального заліза. (1972). ГОСТ 4011-72. Москва: Міждержавний стандарт. Режим доступу: http://www.znaytovar.ru/gost/2/GOST_401172
35. Вода питна. Метод визначення загальної жорсткості. (1972). ГОСТ 4151-72. Москва: Міждержавний стандарт. Режим доступу: http://www.znaytovar.ru/gost/2/GOST_415172_Voda_pitevaya_Meto.html
36. Вода питна. Методи визначення вмісту нітратів. (1973). ГОСТ 18826-73. Москва: Міждержавний стандарт. Режим доступу: <http://www.vashdom.ru/gost/18826-73>
37. Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води. (2005). МВ 10.2.1-113-2005.

- Київ, Україна: Методичні вказівки МОЗ України. Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0060282-05#Text>
38. Визначення найбільш вірогідного числа мікроорганізмів у воді з використанням тестів діагностичних Quanti-Disk та SimPlate. (2008). МР 10.10.21-155-2008. Київ, Україна: Методичні рекомендації МОЗ України.
- Режим доступу: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0138282-08#Text>
39. Методичні вказівки по санітарно-мікробіологічному аналізу води поверхневих вод. (1981). Москва: Методичні вказівки Міністерства охорони здоров'я СРСР Режим доступу: http://online.budstandart.com/ua/catalog/doc-page.html?id_doc=72438
-

V. Serdiuk, V.Maksin (2021). ECOLOGICAL MONITORING OF LIVESTOCK COMPLEXES ON GROUNDWATER QUALITY (ON THE EXAMPLE OF THE PIG BREEDING FARM

№ 11 JV LLC «NYVA PEREIASLAVSCHYNY»). BIOLOGICAL SYSTEMS:

THEORY AND INNOVATION, 12(1): 44-56. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15094>. <https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.005>.

Abstract. Agriculture, especially livestock, is rated as one of the most polluting industries in the world. In the other hand there is a modern approach to the technology implementation, and is this true that with its usage the impact on the environment is so critical and inevitably leads to environmental catastrophe. It is important to investigate and scientifically substantiate the impact of modern livestock complexes on the environment, especially on groundwater resources objectively,. And only after a number of studies conducted on pig farms with a capacity of 30 and 50 thousand heads per year it would be possible to determine next: is livestock an object of ultra-intensive pollution, or it is an object that does not have a significant negative impact on the environment and is also an economic and food lever of the country. The research was conducted on the example of the company JV LLC «NYVA PEREIASLAVSCHYNY» that is located in two districts of Kyiv region – Brovarskyi and Boryspilskyi.

The sanitary protection zone size is 1500 meters to the nearest residential development (MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE, 1996). Projects to reduce the sanitary protection zone have not been developed as there is no need for it.

Research of water quality was performed according to State Sanitary Regulations and Rules "Hygienic Requirements to Quality of Water Intended for Human Consumption" "2.2.4-171-10" (State Water Agency of Ukraine, 2010). It was conducted on samples that were taken from 4 artesian wells that are located on the territory of the pig breeding farm № 11. The aim of the research is to identify the impact of the pig breeding farm's № 11 activity on the underground aquifer and surface water body. To reach this target water samples were collected according to the requirements established in the conclusion on environmental impact assessment from wells in the villages and river. Studies that were conducted during 2020 showed that the quality of water in wells meets the requirements for drinking water. Water samples from wells and ponds showed deviations from the norm up to 10 times. Previous studies did not set a negative impact of the pig breeding farm № 11 on groundwater quality.

Keywords: environmental pollution, ground waters, environmental monitoring plan, livestock breeding complex, water quality.

ВИЗНАЧЕННЯ ФІТОТОКСИЧНОСТІ ВІДХОДІВ МЕХАНІЧНОЇ ПЕРЕРОБКИ СУМІШЕЙ ПОЛІМЕРІВ ІЗ ЇХ МЕХАНІЧНОЮ АКТИВАЦІЄЮ

О. С. МАЛИШЕВСЬКА, кандидат технічних наук, доцент,
доцент кафедри гігієни та екології

E-mail: o16r02@gmail.com. тел.: +380965715578,

ORCID: 0000-0003-0180-2112

Івано-Франківський національний медичний університет,
Івано-Франківськ

Анотація. Біотестування дає можливість оцінити складні взаємозв'язки між ґрунтом, забруднювачем і живими організмами та встановити наявність впливу на екосистеми забруднюючих речовин, концентрації яких можуть перебувати поза межами чутливості методів визначення та склад яких неможливо встановити. Мета – встановити рівень фітотоксичності відходів механічної переробки сумішей полімерів, які вилучено з твердих побутових відходів за допомогою рослин-індикаторів. Оцінку фітотоксичної дії виконали вегетаційними методами за ISO: 17402-2008, 17126-2005a, 11269-1:2012a, 11269-2:2012b. Рівні забруднення досліджуваних зразків оцінювали за ISO 16198. Об'єкти досліджень: насіння крес-салату, гірчиці, пшениці, кукурудзи, сої, ячменю та шлам від переробки сумішей полімерів складений частинками полімерів різного складу та кількості разом із залишками паперових етикеток. Дослідження вмісту важких металів (Pb, Cu, Cd, Zn, Ni) провели атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі типу КАС-120.1 відповідно до загальноприйнятих методик.

Досліджений шлам негативно не впливає на процес проростання крес-салату, гірчиці, кукурудзи. Рівень фітотоксичного впливу шламу на проростання сої та ячменю перебував у межах допустимого та не перевищив 3,33 %. Дослідження міграції наявних у шламі важких металів та їхнє накопичення в процесі росту й розвитку рослин показало їхній незначний вміст незалежно від вмісту шламу. Лише вміст свинцю був вищим ніж у контрольних 2,13 рази та 1,83 разів ніж в «умовно чистому ґрунті». Визначення фітотоксичності даного виду шламу на процес проростання та вегетаційні зміни рослин варто проводити на найбільш чутливих культурах – крес-салат і гірчиця. Дослідження міграції наявних у шламі важких металів та їхнє накопичення у процесі росту рослин показало наявність зв'язаних форм важких металів міді, нікелю, кадмію та цинку – міграції яких не встановлено. Однак, виявлено рухливі форми свинцю, що мігрує з шламу та накопичується у рослинах.

Ключові слова: оцінка токсичності, біотест, фітотоксичність, полімерні відходи, фітотест.

Вступ.

Приблизно 370 млн тонн пластику було спожито у 2019 році, а загальний обсяг збору пластикових відходів не перевищує 50 % від загального споживання. Однак, лише менше третини зібраних пластикових відходів переробляється, тоді як дві третини потрапляє на звалища, сміттєспалювальні заводи та на рекуперацію енергії. На упаковку припадає понад 40 % загального споживання пластмас і становить понад 55 % загальних глобальних відходів пластику; менше 15 % відходів пластикової упаковки, що утворилися, збирається для переробки. [1]. З гігієнічної точки зору динаміка росту споживання полімерів у 5,23 % щорічно вражає, оскільки полімерні матеріали, розкладаючись на звалищах і полігонах забруднюють довкілля продуктами різного ступеня небезпеки [2, 3].

Оцінці відходів полімерів у контексті їхньої біологічної небезпеки приділяється недостатньо уваги, як в Україні так і у світі. Широко вивчено аспект пожежної небезпеки полімерів, які використовують у будівництві [4]. Активно вивчається питання їх безпеки для здоров'я людини під час використання в харчовій промисловості [5-7]. Є певні публікації, які розкривають питання токсичності продуктів горіння полімерів, їхньої деградації в процесі захоронення [4,7]. До цього часу питання біологічної безпеки продуктів переробки полімерних матеріалів і вивчення їхнього впливу на біологічні організми залишається не до кінця вивченим. У зв'язку з цим, вивчення потенційної небезпеки відходів переробки полімерів із врахуванням процесів їхньої трансформації є однією з актуальних

проблем, як наукового, так і прикладного аспекту.

Біотестування дає змогу оцінити складні взаємозв'язки між ґрунтом, забруднювачем і живими організмами та встановити наявність впливу на екосистеми забруднюючих речовин концентрації яких можуть перебувати поза межами чутливості методів визначення та склад яких неможливо встановити [8,9].

Мета – оцінка рівня фітоксичності відходів механічної переробки полімерів, які вилучено з твердих побутових відходів за допомогою рослин-індикаторів.

Об'єкт і методи дослідження.

Об'єкти досліджень – насіння крес-салату (*Lepidium sativum* L.), гірчиці (*Sinapis alba* L.), пшениці (*Triticum aestivum*), кукурудзи (*Zea mays* L.), сої (*Glycine* L.), ячменю (*Hordeum vulgare* L.) та шлам від переробки сумішей полімерів - частинки полімерів різного складу та кількості разом із залишками паперових етикеток.

Оцінку рівня фітотоксичного впливу шламу від механічної переробки сумішей полімерів на вищі рослини провели вегетаційними методами згідно з методиками, викладеними в ISO: 17402-2008, 17126-2005a, 11269-1:2012a, 11269-2:2012b [10-18]. Рівні забруднення досліджуваних зразків оцінювали за ISO 16198 [13,14].

У підготовлені зразки:

- контрольний субстрат – промитий пісок гранулометричного складу: 10 % частинок, більших від 0,6 мм, 80 % між 0,2 мм та 0,6 мм і 10 % – менших за 0,2 мм;
- ростовий субстрат (суміш контрольного субстрату зі шламом) із винесенням досліджуваного шла-

му в кількості: 10 г/кг; 100 г/кг; 500 гр/кг, 1000 мг/кг;

- «чистий» шлам від переробки сумішей полімерних відходів, висівали насіння в кількості 30 шт. та пророщували за відповідних умов упродовж від 3 до 5 діб (залежно від виду рослин). Після пророщування, підраховували кількість проростків у контрольних і дослідних зразках і вираховували відсоток зниження кількості пророслого насіння в дослідних групах у порівнянні з контрольними.

Дослідження вмісту важких металів (Pb, Cu, Cd, Zn, Ni) провели атомно-абсорбційним методом на спектрофотометрі типу КАС-120.1 відповідно до МВВ 081/12-0009-01 (сполук Pb), МВВ 081/12-0117-03 (Ni), МВВ 081/12-0012-01 (Cr), МВВ 081/12-0013-01 (Zn) [15-18].

Статистична обробка даних виконана оцінкою за t-критерію Ст'юдента на програмному забезпеченні StatSoft STATISTICA 10.0.1011.0.

Результати дослідження та їх обговорення.

Оцінка фітотоксичності проводилася за встановленням різниці між рослинами в дослідних та контрольних зразках. Так, якщо різниця не перевищувала 10 %, то такий зразок вважався екологічно чистим. Зниження числа проростків від 10 % до 30 % свідчило про слабку фітотоксичність. Різниця від 30 % до 50 % вказувала на середній, а різниця вища за 50 % – на високий (недопустимий) ступінь фітотоксичності.

За результатами досліджень встановлено, що в зразках із крес-салатом, гірчицею та кукурудзою зафіксовано 100 відсоткове проростання насіння в

усіх досліджуваних зразках незалежно від умісту шламу (рис. 1 а, б, в).

Зниження кількості паростків рослин виявлено в зразках із пшеницею в усіх зразках, включно контрольним, що ставить під сумнів якості використаного насіння та в зразках із соєю на «чистому» шламі (рис. 1 д, е). Неоднозначних результатів отримано фіто тестуванням ячменю, схожість якого була нижчою лише в контрольних зразках та в зразках із 100 г/кг шламу в рослинному субстраті.

З аналізу фітотоксичності шламу механічної переробки сумішей полімерної вторинної сировини за проростками різних сільськогосподарських культур встановлено, що для крес-салату, гірчиці, кукурудзи досліджений шлам не виявив негативного впливу на процес проростання (табл. 1).

Щодо фітотоксичної дії шламу на проростання сої та ячменю, то її рівень перебував у межах допустимого (< 10 %) і не перевищив 3,33 %. Характеризуються своєю неоднозначністю результати отримані під час встановлення фітотоксичного ефекту на пшениці. У проведених дослідях із пшеницею рівень фітотоксичності не вийшов за межі допустимого і склав 6,67 %, але гальмування проростання насіння було в усіх контрольних зразках та в зразку з мінімальним вмістом шламу, що може ставити під сумнів якості використаного для дослідів насіння (табл. 1).

Наступним кроком було встановлення фітотоксичності шламу за величиною зміни довжини стебла та коренів досліджуваних видів рослин (табл. 2).

Аналізом результатів досліджень встановлено, що фітотоксичної дії шламу не виявлено в процесі вирощування кукурудзи, пшениці, ячме-

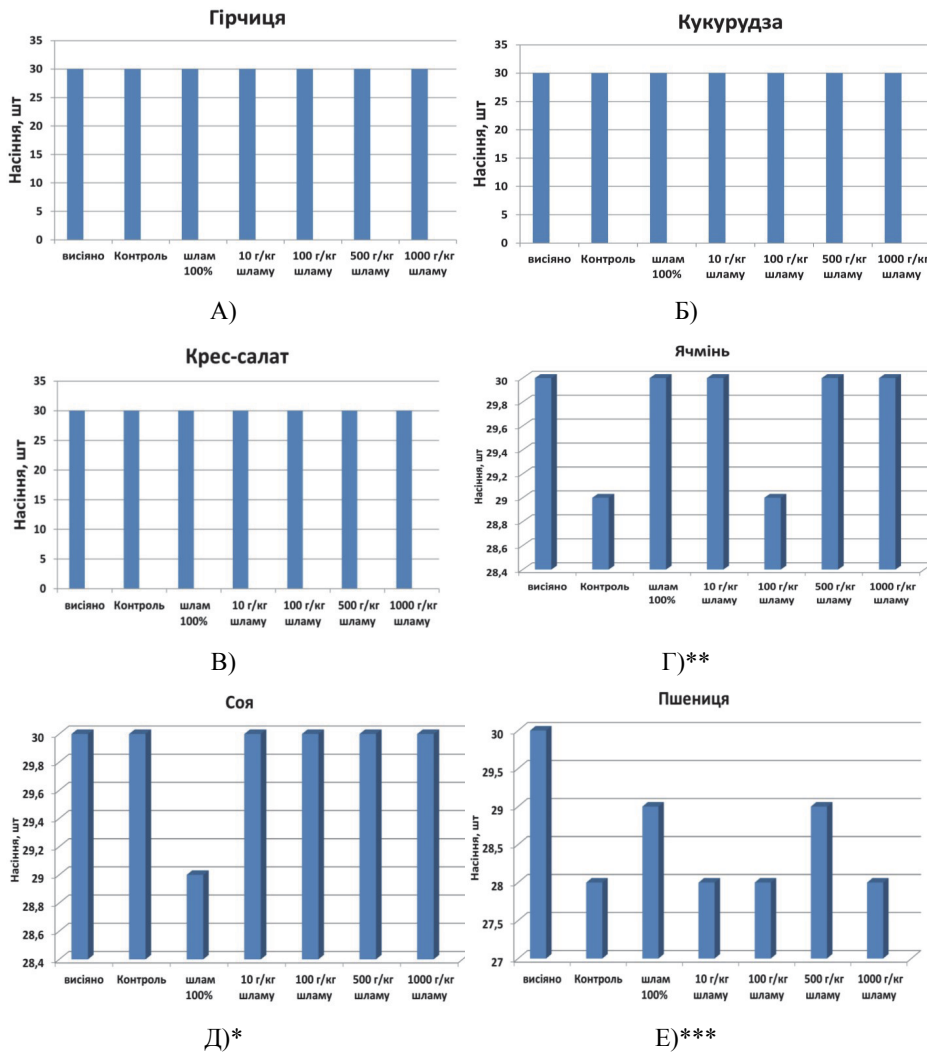


Рис. 1. Вплив шлану механічної переробки полімерної вторинної сировини на схожість насіння різних сільськогосподарських культур
(тут і далі достовірність відмінностей між контролем і дослідженням
* – $p < 0,01$, ** – $p < 0,001$, *** $p < 0,0001$)

ню та сої. Навпаки внесення шлану до контрольного ростового субстрату сприяло стимулюванню росту та розвитку вище зазначених культур від 1,17 % до 218,7 % у порівнянні із контрольними групами (табл. 2).

Під час дослідження фітотоксич-

ного впливу, спричиненого зміною концентрації доданого шлану на довжину коренів і стебел крес-салату та гірчиці, виявлено середню (крес-салат) та слабку (гірчиця) фіто токсичність лише в зразках, вирощених на 100 % шлані. У зразках, вирощених

Таблиця 1. Визначення фітотоксичності шламу механічної переробки сумішей полімерної вторинної сировини за проростками різних сільськогосподарських культур

Назва зразка	Середнє значення про- рослого насіння	Різниця кількості пророслого насіння по- рівняно з контролем, %	Оцінка фітотоксич- ності	Середнє значення про- рослого насіння	Різниця кількості пророслого насіння по- рівняно з контролем, %	Оцінка фітотоксич- ності
	Крес-салат, гірчиця, кукурудза			Пшениця***		
Контрольний	30	-	-	28	6,67	-
«Чистий» шлам	30	-	відсутня	29	3,33	допустима
10 г/кг шламу	30	-	відсутня	28	6,67	допустима
100 г/кг шламу	30	-	відсутня	28	6,67	допустима
500 г/кг шламу	30	-	відсутня	29	3,33	допустима
1000 г/кг шламу	30	-	відсутня	28	6,67	допустима
Назва зразка	Соя *			Ячмінь **		
Контрольний	30	-	-	29	3,33	
«Чистий» шлам	29	6,67	допустима	30	-	відсутня
10 г/кг шламу	30	-	відсутня	30	-	відсутня
100 г/кг шламу	30	-	відсутня	29	3,33	допустима
500 г/кг шламу	30	-	відсутня	30	-	відсутня
1000 г/кг шламу	30	-	відсутня	30	-	відсутня

на «чистому» шламі, виявлено гальмування вегетаційних показників даних культур від -12,9 % до -42,9 % у порівнянні з контрольною групою. В усіх інших зразках внесення шламу до рослинних субстратів лише стимулювало ріст та розвиток рослин до +43,1 % (табл. 2).

Для дослідження міграції наявних у досліджуваному шламі важких металів та їхнє накопичення в процесі росту рослин у рослинних організмах провели аналіз рослинного матеріалу (усереднена проба), вирощеного в лабораторних умовах на шламі й

контрольному субстраті, та умовно чистому ґрунті з Галицького національного парку Галицького району Івано-Франківської області (рис. 2). Дослідження міграції наявних у ростових субстратах важких металів та їхнє накопичення в процесі росту й розвитку рослин у рослинних організмах показало на незначний вміст важких металів у рослинному матеріалі (усереднена проба) вирощеному в лабораторних умовах у всіх досліджених зразках із різним вмістом шламу в рази меншим за ГДК досліджених важких металів у ґрунті.

Таблиця 2. Визначення фітотоксичності шламу механічної переробки сумішей полімерної вторинної сировини за зміною довжини стебла та кореня різних видів сільськогосподарських культур

Назва зразка	Довжина стебла			Довжина кореня			Довжина стебла			Довжина кореня		
	Середнє значення	Зміна довжини, %	Оцінка фітотоксичності	Середнє значення	Зміна довжини, %	Оцінка фітотоксичності	Середнє значення	Зміна довжини, %	Оцінка фітотоксичності	Середнє значення	Зміна довжини, %	Оцінка фітотоксичності
	Крес-салат**/Гірчиця*						Пшениця**/Кукурудза**					
Контрольний	4,07/5,78	-/-	-/-	2,4/3,83	-/-	-/-	8,02/8,75	-/-	-	6,26/11,4	-/-	-/-
«Чистий» шлам	2,7/5,03	-33,6/-12,9	середн./слабка	1,37/2,7	-42,9/-29,5	середн./слабка	8,59/9,77	+7,11/+11,66	доп-уст./доп-уст.	6,96/16,2	+11,2/+42,74	доп-уст./доп-уст.
10 г/кг шламу	4,54/6,28	+11,7/+8,62	доп-уст./доп-уст.	3,31/4,74	+34,8/+23,8	доп-уст./доп-уст.	10,0/9,32	+24,7/+6,53	доп-уст./доп-уст.	8,59/11,5	+37,2/+1,17	доп-уст./доп-уст.
100 г/кг шламу	5,22/6,62	+14,6	доп-уст./доп-уст.	2,91/5,04	+21,3/+31,7	доп-уст./доп-уст.	9,74/9,38	+21,4/+7,22	доп-уст./доп-уст.	8,31/11,7	+32,8/+2,51	доп-уст./доп-уст.
500 г/кг шламу	4,86/7,48	+29,4	доп-уст./доп-уст.	2,62/5,89	+9,27/+53,7	доп-уст./доп-уст.	9,51/9,48	+18,6/+8,34	доп-уст./доп-уст.	7,93/11,6	+26,7/+1,73	доп-уст./доп-уст.
1000 г/кг шламу	4,43/8,27	+8,93/+43,1	доп-уст./доп-уст.	2,56/6,53	+6,67/+70,5	доп-уст./доп-уст.	9,13/9,6	+13,8/+9,71	доп-уст./доп-уст.	7,02/11,4	+12,1/+0,53	доп-уст./доп-уст.
Назва зразка	Соя*						Ячмінь*					
Контрольний	1,23		-	14,75	-		7,86	-		5,83	-	-
«Чистий» шлам	2,43	+97,6	доп-уст.	14,9	+0,95	доп-уст.	9,58	+21,9	доп-уст.	6,54	+12,2	доп-уст.
10 г/кг шламу	1,69	+37,6	доп-уст.	15,9	+7,83	доп-уст.	11,2	+42,1	доп-уст.	6,46	+10,8	доп-уст.
100 г/кг шламу	2,26	+83,4	доп-уст.	16,1	+9,46	доп-уст.	12,3	+56,7	доп-уст.	6,79	+16,4	доп-уст.
500 г/кг шламу	3,16	+157,3	доп-уст.	15,8	+6,92	доп-уст.	13,6	+72,6	доп-уст.	7,28	+24,9	доп-уст.
1000 г/кг шламу	3,92	+218,7	доп-уст.	15,0	+1,76	доп-уст.	12,7	+61,2	доп-уст.	8,24	+41,3	доп-уст.

Зокрема, уміст міді, нікелю, кадмію й цинку в пробі – рослинний матеріал, вирощений на шламі був нижчим,

ніж уміст важких металів у пробах – «умовно чистий ґрунт» і контрольний субстрат. Лише вміст свинцю був дещо

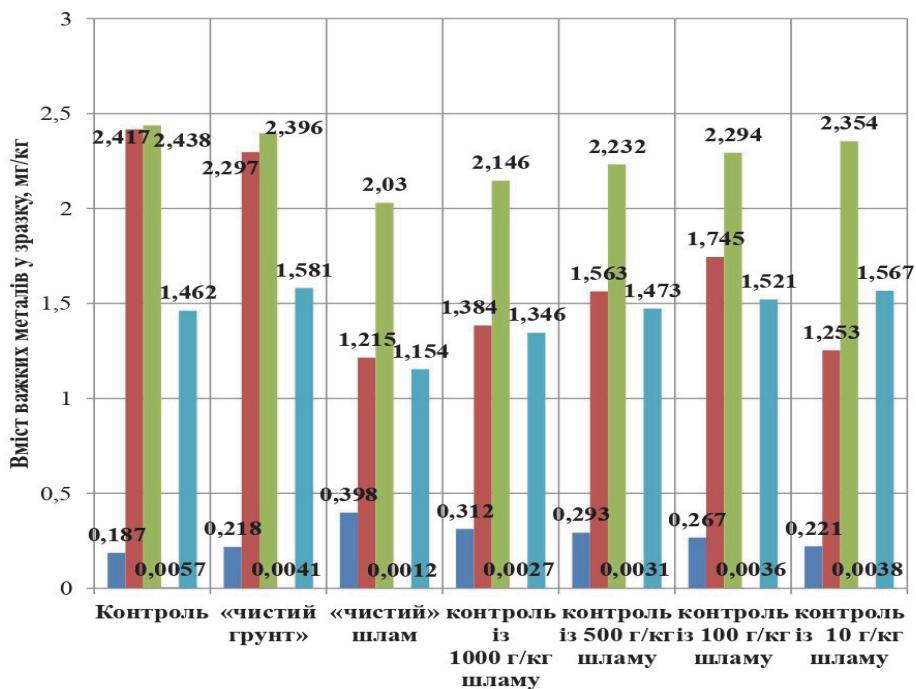


Рис. 2. Вміст важких металів в усередненій пробі рослинного матеріалу, вирощеного під час проведення лабораторних досліджень на фітотоксичність шламу механічної переробки сумішей полімерної вторинної сировини

вищим у порівнянні з контрольними зразками – відповідно 1,83 рази та 2,13 разів у порівнянні з контрольним та «умовно чистим ґрунтом».

Висновки.

Аналізу результатів фітотоксичної дії на проростання досліджених рослин показав, що досліджений шлам не виявляє негативного впливу на процес проростання крес-салату, гірчиці, кукурудзи. Рівень фітотоксичного впливу шламу на проростання сої та ячменю перебував у межах допустимого.

Проведеними дослідженнями з оцінки фітотоксичної дії шламу, отриманого в процесі механічної переробки вторинної змішаної полімерної сировини,

вилученої з твердих побутових відходів, встановлено, що визначення фітотоксичності даного виду шламу на процес проростання та вегетаційні зміни рослин варто проводити на найбільш чутливих культурах – крес-салат і гірчиця. Досліджені культури сої, кукурудзи, пшениці та ячменю не були чутливими до фітотоксичного впливу шламу переробки полімерної вторинної сировини.

Дослідження міграції наявних у ростових субстратах важких металів та їх нагромадження в процесі росту й розвитку рослин у рослинних організмах показало наявність зв'язаних форм важких металів міді, нікелю, кадмію та цинку – міграції яких не встановлено. Однак, виявлено рухливі форми свинцю, що легко мігрує

з ґрунтових субстратів у рослини та накопичується у їхніх організмах.

Перспективи подальших досліджень. Заплановано проведення досліджень з оцінки впливу дослідженого шламу на представників гідробіоти.

Література

1. Convergence and Collaboration to Usher Circular Economy in the Plastics and Composites Industry. (Globe newswire) (2021). New York. Frost & Sullivan. 117 p. Available at: https://www.reportlinker.com/p06037575/?utm_source=GNW
2. Koch C, Sures B. (2019). Degradation of brominated polymeric flame retardants and effects of generated decomposition products, *Hemosphere*. 227.329-333. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.052>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653519307003>.
3. Krawiec P, Warguła Ł, Małozieć D, Kaczmarzyk P, Dziechciarz A, Czarnecka-Komorowska D. (2020). The Toxicological Testing and Thermal Decomposition of Drive and Transport Belts Made of Thermoplastic Multilayer Polymer Materials. 12.2232. <https://doi.org/10.3390/polym12102232>
4. Kandola B, Boudenne A, Kiekens P. (2016). Toxic Combustion Product Yields as a Function of Equivalence Ratio and Flame Retardants in Under-Ventilated Fires: Bench-Large-Scale Comparisons. *Polymers*. 8(9).330. <https://doi.org/10.3390/polym8090330>
5. Pecquet A, McAvoy D, Pittinger C, Stanton K. *Polymers* (2019). Used in US Household Cleaning Products: Assessment of Data Availability for Ecological Risk Assessment. *Integr Environ Assess Manag*.15(4):621-632. doi: 10.1002/ieam.4150.
6. The ECETOC Conceptual Framework for Polymer Risk Assessment (CF4Polymers) Technical Report. Brussels. ISSN-2079-1526-133-1. (2019). 133-1(1). Available at: <https://www.ecetoc.org/wp-content/uploads/2019/06/ECETOC-TR133-CF4Polymers.pdf>
7. Henry B, Carlin J. Hammerschmidt J, et al. (2018). A critical review of the application of polymer of low concern and regulatory criteria to fluoropolymers. *Critical Review. Integrated Environmental Assessment and Management*. 14(3).316-334. <https://doi.org/10.1002/ieam.4035>
8. Lyubenova M, Boteva S. (2016). Toxicology - New Aspects to This Scientific Conundrum. *Biotests in Ecotoxicology: Current Practice and Problems*. InTech, October. 243 p. doi: 10.5772/62600
9. Methneni N, Morales-González J, Jaziri A, Mansour H, Fernandez-Serrano M. (2021). Persistent organic and inorganic pollutants in the effluents from the textile dyeing industries: Ecotoxicology appraisal via a battery of biotests. *Environmental Research*. 196 (1).1109-56. doi.org/10.1016/j.envres.2021.110956.
10. ISO 17402 - 2008 - Soil quality - Requirements and guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials. Available at: <https://www.iso.org/standard/38349.html>
11. ISO 17126 -2005a - Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Screening test for emergence of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.). Available at: <https://www.iso.org/standard/31214.html>
12. ISO 11269-1:2012a - Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Part 1: Method for the measurement of inhibition of root growth. Available at: <https://www.iso.org/standard/51388.html>
13. ISO 11269-2:2012b - Soil quality - Determination of the effects of pollutants on soil flora - Part 2: Effects of contaminated soil on the emergence and early growth of higher plants. Available at: <https://www.iso.org/standard/51382.html>
14. ISO 16198 - Soil quality - Plant-based test to assess the environmental bioavailability of

- trace elements to plants. <https://www.iso.org/standard/55834.html>
15. MM 081/12-0009-01 Soils. Method of performing measurements of lead by atomic absorption spectrophotometry (2.0-100 mg/kg) (in Ukrainian). Available at: http://online.budstandart.com/ru/catalog/doc-page?id_doc=76348
 16. MM 081/12-0117-03 Soils. Methods of measuring the mass fraction of mobile forms of nickel and cobalt by atomic absorption method) (in Ukrainian). Available at: http://online.budstandart.com/ru/catalog/doc-page.html?id_doc=90869
 17. MM 081/12-0012-01 Soils. Method of performing chromium measurements by atomic absorption spectrophotometry) (0.5-100 m/kg) (in Ukrainian). Available at: http://online.budstandart.com/ru/catalog/doc-page.html?id_doc=76345
 18. MM 081/12-0013-01 Soils. Method of performing zinc measurements by atomic absorption spectrophotometry (5-1000 mg/kg) (in Ukrainian). Available at: http://online.budstandart.com/ru/catalog/doc-page.html?id_doc=76346

O. S. Malyshevska (2021). DETERMINATION OF PHYTOTOXICITY OF WASTES OF MECHANICAL PROCESSING OF POLYMER MIXTURES WITH THEIR MECHANICAL ACTIVATION. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 12(1): 57-65.
<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15111>.
<https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.006>.

Abstract. *Biotesting to assess the complex relationships between soil, contaminants and living organisms and to determine the impact on ecosystems of pollutants whose concentrations may be beyond the sensitivity of the methods of determination and the composition of which cannot be determined. The aim is to establish the level of phytotoxicity of wastes of mechanical processing of polymer mixtures, which are extracted from solid household waste with the help of indicator plants. Methods. Evaluation of phytotoxic effects was performed by vegetation methods according to ISO: 17402-2008, 17126-2005a, 11269-1: 2012a, 11269-2: 2012b. Contamination levels of the test samples were assessed according to ISO 16198. Objects of research: watercress seeds, mustard, wheat, corn, soybeans, barley and sludge from the processing of polymer mixtures composed of polymer particles of different composition and quantity, along with the remnants of paper labels. Studies of the content of heavy metals (Pb, Cu, Cd, Zn, Ni) were performed by atomic absorption method on a spectrophotometer type CAS-120.1 in accordance with generally accepted methods. Results. The studied sludge does not negatively affect the process of germination of watercress, mustard, corn. The level of phytotoxic effect of sludge on the germination of soybeans and barley was within acceptable limits and did not exceed 3.33%. The study of migration of heavy metals present in the sludge and their accumulation during the growth and development of plants showed their insignificant content regardless of the sludge content. Only the lead content was higher than in the control 2.13 times and 1.83 times higher than in "relatively clean soil". Conclusions. Determination of phytotoxicity of this type of sludge on the process of germination and vegetation changes of plants should be carried out on the most sensitive crops - watercress and mustard. A study of the migration of heavy metals present in the sludge and their accumulation during plant growth showed the presence of bound forms of heavy metals copper, nickel, cadmium and zinc - the migration of which has not been established. However, mobile forms of lead that migrate from the sludge and accumulate in plants have been identified.*

Keywords: *toxicity assessment, bioassay, phytotoxicity, polymer waste, phytotest.*

ЕКОЛОГІЧНА ОЦІНКА РОЛІ МІКРООРГАНІЗМІВ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА В ТРАНСФОРМАЦІЇ КСЕНОБІОТИКІВ НА ПРИКЛАДІ ЧОРНОГО МОРЯ

М. О. ПАВЛОВСЬКА, аспірантка, Національний університет біоресурсів і природокористування України, науковий співробітник, Державна Установа Національний антарктичний науковий центр МОН України
E-mail: mawwwa88@gmail.com

Л. І. СОЛОМЕНКО, кандидат біологічних наук, доцент кафедри загальної екології та безпеки життєдіяльності, Національний університет біоресурсів і природокористування, Київ, Україна
E-mail: sollud@nubip.edu.ua

Є. П. ПРЕКРАСНА, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, Державна Установа Національний антарктичний науковий центр МОН України
E-mail: preckrasna@gmail.com

Анотація. Стаття містить аналітичний огляд сучасного бачення проблеми забруднення ксенобіотиками водного середовища на прикладі Чорного моря, як особливо вразливого до впливу забруднюючих речовин, оскільки воно є об'єктом напівзакрытого типу й отримує значну кількість річкового стоку з Дунаю, Дніпра та Дністра.

Згідно з даними проєкту ПРООН ЕМБЛАС у зразках води Чорного моря було виявлено 80 різних видів забруднюючих речовин, з-поміж яких 17 типів пестицидів, концентрація яких перевищувала норму як у відкритих водах, так і в межах шельфової зони.

Показано, що надходження ксенобіотиків призводить до таксономічних та функціональних змін угруповань мікроорганізмів водного середовища. Потіки поліароматичних вуглеводнів у морських екосистемах перебувають під впливом мікробної деструкції та біологічного насосу, що попереджає накопичення забруднюючих речовин у харчових ланцюгах.

У цьому огляді узагальнено дані щодо надходження ксенобіотиків до водної товщі та донних осадів водної екосистеми. Подано аналіз відомих досліджень щодо участі мікроорганізмів у процесах трансформації та траслокації забруднюючих речовин різного походження, що виявляють ксенобіотичні властивості. Також обґрунтовано актуальність дослідження функціональної відповіді угруповань мікроорганізмів водного середовища на надходження ксенобіотиків на прикладі екосистеми Чорного моря.

Ключові слова: водна екосистема, ксенобіотики, пестициди, трансформація, траслокація, угруповання мікроорганізмів.

Актуальність.

Серед забрудників водного середовища найбільше виявлено синтетичних забруднюючих речовин, які потрапляють сюди внаслідок господарської діяльності людини. Серед них пестициди та добрива, які використовуються в сільськогосподарській діяльності, а також синтетичні сполуки промислового походження – фармацевтичні речовини, фарбники, розчинники, антипірени тощо [3]. Ці речовини потрапляють до водного середовища як у мікроконцентраціях (від нг/л до мкг/л), так і високих концентраціях (від мкг/л до мл/л) [2], виявляючи властивості ксенобіотиків, залишаючись довгий час стійкими до дії абіотичних та біотичних чинників.

Чорне море є особливо вразливим до забруднення ксенобіотиками через його напівзакритий характер і значний річковий сток. Чорне море фактично ізольоване від інших морських водойм і сполучене лише із Середземним морем через канал Босфор. До поверхневих вод надходить значна маса води із дренажного басейну, що включає регіони із сільськогосподарським та іншим антропогенним впливом у континентальній Європі [4]. Отже, завдяки річковому стоку до морської екосистеми Чорного моря потрапляє значна кількість алохтонного матеріалу, близько половини якого надходить із річки Дунай [5], а решта переважно з річок Дніпра та Дністра. Крім річкового стоку джерелами забруднення акваторії Чорного моря є аварії на танкерах, видобування нафти на морському шельфі та транспортування нафтопродуктів [6].

Зазначені чинники призводять до постійного забруднення Чорного моря, що загрожує біорізноманіттю через появу в морських організмів набутої та

хронічної токсичності, акумуляцію в екосистемі, втрату оселищ і в результаті несе негативні наслідки для людського здоров'я. Особливу небезпеку становлять стійкі органічні забрудники (СОЗ), а саме такі речовини, як хлоорганічні пестициди, поліхлорбіфеніли, поліароматичні вуглеводні та ін. Використання вказаних речовин заборонено в багатьох країнах через їх токсичність, стійкість та біоаккумуляцію. Ці речовини виявляють властивості ксенобіотиків, залишаючись у середовищі впродовж тривалого часу після їхнього надходження в незмінному стані [7], спричиняючи негативний вплив на гідробіонтів та на харчові ланцюги загалом.

Згідно з останніми даними [8, 9, 10] поточна екологічна та епідеміологічна ситуація в чорноморському регіоні є несприятливою, особливо в прибережних зонах. Забруднення ксенобіотиками є однією із серйозних екологічних проблем і одним з основних дескрипторів екологічного статусу морських водойм ЄС згідно з Рамковою Директивою Морської Стратегії ЄС [11].

Стійкі органічні забрудники можуть вважатися постійними компонентами екосистеми Чорного моря, оскільки їх регулярно виявляли в зразках морської води впродовж останніх 20 років. Так, було виявлено аценафтен, пірилен, пірен, флуорантрен, фенанатрен, 1,2-бензопірен, 11,12-бензофлуорантрен та кризен, що відомі як канцерогенні ПАВ [12]. У 2002 році [13] було показано, що концентрація ПАВ у донних осадах Чорного моря є незначною, за винятком дослідних станцій, розташованих у дельті Дунаю, Одеській бухті та дельті ріки Сочі, що пов'язують із вищим антропогенним навантаженням у цих ділянках акваторії.

У 1998 році Tunger et al. 1998 виявили, що з турецького узбережжя Чорного

моря надходять хлоровані біфеніли та хлорорганічні пестициди. Ці дані було підтверджено дослідженнями [14], які показали наявність дихлордифенілтрихлоретану, олддріну, ліндану, а-гексахлоргексану, d-гексахлоргексану та гептахлор епоксиду в донних осадах вздовж турецького узбережжя. Значні концентрації олддріну, діелдріну, гептахлор епоксиду, ліндану, сульфату ендосульфану та гексахлорбензолу було виявлено в зразках донних осадів, молюсків та зразках морської води [15].

За даними, отриманими в рамках проекту ЕМБЛАС у 2017 році, органічні забруднюючі речовини, пестициди та ксенобіотики було виявлено, як у воді, так і в донних осадах у межах усього регіону досліджень. Так, концентрації важких металів загалом не перевищували норму (EQS, встановлена Директивою ЄС 2013/39/EU), однак концентрація ртуті перевищувала норму на 63 % станцій. Забруднення важкими металами вважається однією з пріоритетних екологічних проблем, оскільки іони металів є стійкими до процесу мікробної деструкції.

Загалом під час дослідницької експедиції ЕМБЛАС-2017 у зразках морської води було виявлено 80 різних видів забруднюючих речовин, з-поміж яких 17 типів пестицидів. Так, пропазин та карбоксин були присутні у всіх досліджених зразках у середній концентрації 3,8 та 4,0 нг/л, відповідно. Сумарна концентрація ізомерів гексахлоргексану в морській воді перевищувала максимально допустимі концентрації на 29 із 33 досліджених станцій. Було виявлено тренд до зменшення, як кількості ксенобіотиків так і їхні концентрації від шельфових зон до відкритих вод. Відповідно, найвищі концентрації та різноманітність ксенобіотиків було виявлено в районі дельти Дунаю [9].

Концентрація ксенобіотиків у зразках донних осадів була загалом вищою, ніж у морській воді [9]. Найбільш забрудненими виявилися донні осади, відібрані на станціях у районі дельти Дунаю. У районі українського шельфу спостерігалось перевищення допустимих концентрацій хлорорганічних сполук, пірену, конгенерів поліхлорфбіфенілу. Сумарні концентрації ізомерів гексахлоргексану перевищували норму на 29 станціях із 33.

Екологічна оцінка впливу ксенобіотиків на мікробоценоз водної екосистеми. Відомо, що постійне надходження ксенобіотиків до морського середовища призводить до зміни таксономічного та функціонального складу мікробних угруповань [16, 17]. Мікробна деструкція та біологічний насос контролюють глобальні потоки поліароматичних вуглеводнів у морських екосистемах внаслідок впливу на процеси седиментації частинок та вилучення через біоаккумуляцію [18].

Здатність до функціональної відповіді на забруднення середовища ксенобіотиками була показана для представників багатьох таксономічних груп, таких як α -Proteobacteria, β -Proteobacteria, γ -Proteobacteria, Actinobacteria, Bacilli, Clostridium [19, 20, 18], які широко представлені в мікробних угрупованнях Чорного моря.

Прокаріоти, що здатні до деструкції органічних забруднюючих речовин можуть використовувати їх, як джерело вуглецю, або розкладати ксенобіотики без використання їх, як субстрату для росту, активуючі специфічні ферменти – ди- та монооксигенази або дигідрохлоріази [21, 22]. Такі перетворення мають значну роль у процесі вилучення ксенобіотиків із харчових ланцюгів екосистеми, оскільки, утворені внаслідок мікробних трансформацій речови-

ни, є часто менш токсичними, ніж вихідні сполуки [22, 19, 23, 24, 18]. Крім того, мікробне розщеплення довголанцюгових полімерних сполук на оліго- та мономери робить їх доступними для засвоєння іншими організмами.

Роль мікроорганізмів у розкладі ксенобіотиків. На розклад пестицидів у морському середовищі впливає багато чинників, таких як: структура пестицидів (молекулярна маса, просторова структура, тип замішувача) [25] та параметри довкілля (температура, солоність, рН, концентрація кисню, вуглекислого газу та субстрату) [26, 27], адже дія ферментів бактерій залежить

насамперед від оптимальної температури, рН та концентрації субстрату.

У процесі мікробного розкладу пестицидів у першій фазі залучено 3 основні групи ферментів: гідролази, естерази та оксидази зі змішаною функцією. У другій фазі ключову роль відіграє група глутатіон-S-трансфераз [33]. Вказані групи ферментів каталізують такі метаболічні реакції, як гідроліз, окиснення, окиснення аміногрупи (NH_2) до нітрогрупи, включення гідроксильної групи до бензенового кільця, дегалогенація, заміщення сульфуру киснем, розщеплення ароматичного кільця тощо (табл. 1).

1. Участь ферментів у процесі мікробної деструкції ксенобіотиків [28]

Фермент	Організм	Пестицид
Оксиредуктази	<i>Pseudomonas</i> sp. LBr <i>Agrobacterium</i> strain T10	Гліфосат
Монооксигенази:		
ESd	<i>Mycobacterium</i> sp.	Ендосульфат
Ese	<i>Arthrobacter</i> sp.	Ендосульфат, альдрін, ДДТ
Cyp1A1/1 ^{a2}	<i>Rats</i>	Атразін, норфлуразон та ізопротурон
Cyp76B1	<i>Helianthus tuberosus</i>	Лінурон, хлортолулон та ізопротурон
P450	<i>Pseudomonas putida</i>	Гексахлорбензен, пентахлорбензен
Диоксигенази	<i>Pseudomonas putida</i>	Трифуралін
E3	<i>Lucilia cuprina</i>	Синтетичні піретроїди, фосфотрієстер
Фосфотриєстерази: OPH/OpdA	<i>Agrobacterium radiobacter</i> <i>Pseudomonas diminuta</i> <i>Flavobacterium</i> sp.	Фосфотрієстер
Дегалогенази: LinB	<i>Sphingobium</i> sp. <i>Shingomonas</i> sp.	Гексахлоргексан (β та δ ізомери)
AtzA	<i>Pseudomonas</i> sp. ADP	Гербіцид глоро-S-тразін
TrzN	<i>Nocardioideis</i> sp.	Гербіцид глоро-S-тразін
LinA	<i>Sphingobium</i> sp. <i>Shingomonas</i> sp.	Гексахлоргексан (γ ізомер)
TfdA	<i>Ralstonia eutropha</i>	2,4 – дихлорфеноксиоцтова кислота
DMO	<i>Pseudomonas maltophilia</i>	Дикамба

2. Якісний склад мікробної деструкції пестицидів [28]

Таксономічна група	Назва пестициду
<i>Pseudomonas</i>	Олдрін, хлорпірифос, ендрін, ендосульфат, гексахлоргексан, монокротофос, ДДТ [29, 30], кумафос [30], діазінон, паратіон-метил та паратіон [29, 30]
<i>Bacillus</i>	Хлорпірифос, гліфосат, паратіон-метил, монокротофос, паратіон [29, 30], кумафос [30], ДДТ, діазінон, діедрин, ендосульфат, ендрін [29]
<i>Alcaligenes</i>	Хлорпірифос [29], ендосульфат [29, 30]
<i>Flavobacterium</i>	Діазінон, гліфосат, паратіон-метил, паратіон [29]

Загалом процес розкладу пестицидів можна поділити на 3 фази. Під час першої фази молекули субстрату зазнають модифікацій через окиснення, відновлення чи гідроліз, унаслідок чого утворюється нова сполука, яка є зазвичай краще розчинною у воді та менш токсичною [27]. Друга фаза полягає в кон'югації сполуки пестициду чи його похідної з цукром чи амінокислотою, що покращує її розчинення у воді та знижує токсичність. Упродовж третьої фази відбувається перетворення метаболітів на вторинні кон'югати, які не є токсичними. Роль мікроорганізмів у цих процесах полягає в продукуванні відповідних ферментів – гідролаз, оксигеназ, пероксидаз тощо [27].

Згідно з багатьма дослідженнями представники роду *Pseudomonas* є найефективнішими в плані мікробної деструкції органічних забруднюючих речовин, у тому числі пестицидів. Було показано, що *Pseudomonas* можуть розкладати гербіцид арохлор 1242 на 99,8 % [28]. Здатність до розкладу пестицидів була також експериментально показана для представників *Bacillus*, *Alcaligenes* та *Flavobacterium* (табл. 2). Проте, лише комбіновані консорції мікроорганізмів здатні до ефективного розкладу пестицидів за короткий проміжок часу [29].

Необхідно звернути увагу на те, що на відміну від органічних забрудню-

ючих речовин, важкі метали не підлягають деструкції завдяки хімічним та біологічним процесам, а лише трансформції в менш токсичну форму [31]. Серед адаптаційних механізмів, які розвинулись у мікроорганізмів, що існують у забрудненому токсичними металами середовищі, здатність до біосорбції, біоаккумуляції та біотрансформації.

Одним із механізмів детоксикації є зміна валентності металів через ферментативне відновлення. Так, ртуть органічна ліаза – фермент стійких до ртуті бактерій, трансформує метилртуть у двовалентну руть (Hg (II)), токсичність якої в сотню разів нижча [31]. Іншим механізмом є зв'язування токсичних металів із метал-тіонеїновими білками [32] похідними глутатіону, такими як фітохелатин. Ці хелатори зв'язуються з токсичними металами і спряють мікробній адсорбції та транспорту іонів металів. Також, можливим механізмом є трансформація металів у леткий стан, що стосується лише селену Se та ртуті Hg. Бактеріальний фермент MerA забезпечує перехід Hg(II) до легкої форми Hg(0) [33]. Є досвід застосування процесу мікробного відновлення Se(V) до Se(0) для ремедіації забруднених вод та ґрунтів [33]. Стійкість до токсичних металів була експериментально показана для представників роду *Bacillus* (*Bacillus cereus*, *Bacillus circulans*), а також для *Brevibacterium casei* [32].

Висновки.

Стійкі органічні забруднюючі речовини регулярно виявляють у водах та донних осадах Чорного моря впродовж останніх 20 років. Згідно з останніми даними, отриманими в рамках проєкту ЕМБЛАС у 2016 та 2017 рр., в акваторії Чорного моря було виявлено широкий спектр ксенобіотиків, а концентрації хлорорганічних сполук (таких як гексахлоргексан) перевищували максимально допустимі на всіх станціях відбору. Відомо, що трансформація ксенобіотиків морськими мікробними угрупованнями має значне екологічне значення, оскільки запобігає акумулюванню забруднюючих речовин у трофічних ланцюгах. Так, було експериментально показано, що в цьому процесі залучені такі таксономічні групи прокариот: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Alcanigenes*, *Flavobacterium*, які широко представлені у мікробних угрупованнях Чорного моря. Перебіг процесу мікробної трансформації ксенобіотиків у морському середовищі залежить від низки факторів: структури забруднюючої речовини, температури, солоності, концентрації кисню у воді тощо. За процес мікробної деструкції пестицидів відповідають оксиредуктази, монооксигенази, діоксигенази, фосфотриєстерази та дегалогенази. Водночас, на відміну від органічних забруднюючих речовин, важкі метали не підлягають мікробній деструкції, а лише трансформації в менш токсичну форму завдяки ферментативному відновленню, біосорбції та біоаккумуляції.

Отже, попередні дослідження свідчать про важливу екологічну роль угруповань мікроорганізмів у процесі виведення забруднюючих речовин із трофічних ланцюгів. Проте,

детальні механізми цього процесу є недостатньо вивченими через гетерогенність умов кожного окремого водного середовища. Саме тому є актуальним дослідження відповіді мікробних угруповань Чорного моря на антропогенний вплив та вивчення механізмів його самовідновлення.

Посилання.

1. Atashgahi, S., Shetty, S. A., Smidt, H., & de Vos, W. M. (2018). Flux, Impact, and Fate of Halogenated Xenobiotic Compounds in the Gut. *Frontiers in physiology*, 9, 888 <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00888>
2. Schwarzenbach R. P., Escher B. I., Fenner K., Hofstetter T. B., Johnson C. A., Von Gunten U., et al. . (2006). The challenge of micropollutants in aquatic systems. *Science* 313, 1072–1077. <https://doi.org/10.1126/science.1127291>
3. Fetzner S. (2002). Biodegradation of xenobiotics. In Doelle H W, Rokem S, Berovic M (eds.) *Biotechnology. Volume 10. Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*. EOLSS Publishers Co. Ltd., Oxford. pp. 215–246
4. Diamanti, K.S., Alygizakis, N.A., Nika, M.C. et al. Assessment of the chemical pollution status of the Dniester River Basin by wide-scope target and suspect screening using mass spectrometric techniques. *Anal Bioanal Chem* 412, 4893–4907 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02648-y>
5. Shimkus, K.M., Trimonis, E.S., (1974). Modern sedimentation in Black Sea. In: Degens, E.T., Ross, D.A. (Eds.). *The Black Sea—Geology, Chemistry, and Biology*, vol. 20. Am. Assoc. Pet. Geol. Mem, pp. 249–279
6. Readman, J. W., Fillmann, G., Tolosa, I., Bartocci, J., Villeneuve, J. P., Catinni, C., & Mee, L. D. (2002). Petroleum and PAH contamination of the Black Sea. *Marine Pollution Bulletin*. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00189-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00189-8)
7. Smith, J. N., Lee, K., Gobeil, C., & Macdonald, R. W. (2009). Natural rates of sediment

- containment of PAH, PCB and metal inventories in Sydney Harbour, Nova Scotia. *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.029>
8. Slobodnik et al., Scientific Report, National Pilot Monitoring Studies and Joint Open Sea Surveys in Georgia, Russian Federation and Ukraine, 2016, EU/UNDP Project: Improving Environmental Monitoring in the Black Sea – Phase II (EMBLAS-II), ENPI/2013/313- 169, http://emblasproject.org/wp-content/uploads/2018/08/EMBLAS-II_NPMS_JOSS_2016_ScReport_Final3.pdf, accessed on 12 May 2021
 9. Slobodnik et al., Scientific Report, National Pilot Monitoring Studies and Joint Open Sea Surveys in Georgia, Russian Federation and Ukraine, 2017, EU/UNDP Project: Improving Environmental Monitoring in the Black Sea – Phase II (EMBLAS-II), ENPI/2013/313-169, http://emblasproject.org/wp-content/uploads/2019/07/EMBLAS-II_NPMS_JOSS_2017_ScReport_FinDraft2.pdf, November 2018, accessed on 12 May 2021
 10. Slobodnik J., Alygizakis N., Oswald P., Oswaldova M., Nika M-C., Vrana B., Prokes R., Stoica E., Pavlovska M., Prekrasna I., Dykyi E., and Thomaidis N. 2019. EMBLAS - Improving Environmental Monitoring in the Black Sea. *Norman Bulletin*: 6, https://www.norman-network.net/sites/default/files/files/bulletins/Bulletin_Norman_n%C2%B06_octobre2019_06_11_2019.pdf, accessed on 12 May 2021
 11. European Commission. Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy. *Off. J. Eur. Union*, 164 (2008), pp. 19-40
 12. Javier Castro-Jiménez, Naiara Berrojalbiz, Jan Wollgast, Jordi Dachs. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the Mediterranean Sea: Atmospheric occurrence, deposition and decoupling with settling fluxes in the water column. *Environmental Pollution*, Elsevier, 2012, 166, pp.40-47. [ff10.1016/j.envpol.2012.03.003](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.03.003)
 13. Baquero, F., García-Rodríguez, JA., García de Lomas, J., Aguilar, L. (1999). The Spanish Surveillance Group for Respiratory Pathogens. Antimicrobial resistance of 1,113 *Streptococcus pneumoniae* isolates from patients with respiratory tract infections in Spain: results of a 1-year (1996–1997) multicenter surveillance study. *Antimicrob Agents Chemother*, 43, 357–359 <https://doi.org/10.1128/AAC.43.2.357>
 14. Bakan, G., & Ariman, S. (2004). Persistent organochlorine residues in sediments along the coast of mid Black Sea Region of Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, 48, 1031–1039 <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2003.12.005>
 15. Ozkoc, H.B., Bakan, G. & Ariman, S. (2007). Distribution and bioaccumulation of organochlorine pesticides along the Black Sea coast. *Environ Geochem Health* 29, 59–68 <https://doi.org/10.1007/s10653-006-9064-y>
 16. Atlas, R. M., & Hazen, T. C. (2011). Oil biodegradation and bioremediation: A tale of the two worst spills in U.S. history. *Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1021/es2013227>
 17. Kostka, J. E., Teske, A. P., Joye, S. B., & Head, I. M. (2014). The metabolic pathways and environmental controls of hydrocarbon biodegradation in marine ecosystems. In *Frontiers in Microbiology*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00471>
 18. Duran, R., & Cravo-Laureau, C. (2016). Role of environmental factors and microorganisms in determining the fate of polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine environment. In *FEMS Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw031>
 19. Louvado, A., Gomes, N. C. M., Simões, M. M. Q., Almeida, A., Cleary, D. F. R., & Cunha, A. (2015). Polycyclic aromatic hydrocarbons in deep sea sediments: Microbe-pollutant interactions in a remote environment. In *Science of the Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.048>
 20. Chakraborty, J., & Das, S. (2016). Molecular perspectives and recent advances in mi-

- crobial remediation of persistent organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6887-7>
21. Hidalgo, K. J., Sierra-Garcia, I. N., Dellaghezze, B. M., & de Oliveira, V. M. (2020). Metagenomic Insights Into the Mechanisms for Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Oil Supply Chain. *Frontiers in microbiology*, 11, 561506. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.561506>
22. Muangchinda, C., Chavanich, S., Viyakarn, V., Watanabe, K., Imura, S., Vangnai, A. S., & Pinyakong, O. (2015). Abundance and diversity of functional genes involved in the degradation of aromatic hydrocarbons in Antarctic soils and sediments around Syowa Station. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3721-y>
23. Isaac, P., Lozada, M., Dionisi, H. M., Estévez, M. C., & Ferrero, M. A. (2015). Differential expression of the catabolic nahAc gene and its effect on PAH degradation in *Pseudomonas* strains isolated from contaminated Patagonian coasts. *International Biodeterioration and Biodegradation*. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2015.08.011>
24. Liu, Q., Tang, J., Bai, Z., Hecker, M., & Giesy, J. P. (2015). Distribution of petroleum degrading genes and factor analysis of petroleum contaminated soil from the Dagang Oilfield, China. *Scientific Reports*. <https://doi.org/10.1038/srep11068>
25. Mahro B., Müller R., Kasche V. (2012). Bioavailability—The Key Factor of Soil Bioremediation. *Treat. Contam. Soil*:181–195. https://doi.org/10.1007/978-3-662-04643-2_13
26. Sartoros C., Yerushalmi L., Béron P., Guiot S.R. (2015). Effects of Surfactant and Temperature on Biotransformation Kinetics of Anthracene and Pyrene. *Chemosphere*. 61:1042–1050. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.061>
27. Huang, Y., Xiao, L., Li, F., Xiao, M., Lin, D., Long, X., & Wu, Z. (2018). Microbial degradation of pesticide residues and an emphasis on the degradation of cypermethrin and 3-phenoxy benzoic acid: A review. *Molecules*. 23(9):2313. <https://doi.org/10.3390/molecules23092313>
28. Laura, M., Snchez-Salinas, E., Dantn Gonzalez, E., & Luisa, M. (2013). Pesticide Biodegradation: Mechanisms, Genetics and Strategies to Enhance the Process. In *Biodegradation - Life of Science*. <https://doi.org/10.5772/56098>
29. Verma, J. P., Jaiswal, D. K., & Sagar, R. (2014). Pesticide relevance and their microbial degradation: a-state-of-art. In *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. <https://doi.org/10.1007/s11157-014-9341-7>
30. Upadhyay, L. S. B., & Dutt, A. (2018). Microbial detoxification of residual organophosphate pesticides in agricultural practices. In *Microbial Biotechnology*. https://doi.org/10.1007/978-981-10-6847-8_10
31. Wu, G., Kang, H., Zhang, X., Shao, H., Chu, L., & Ruan, C. (2010). A critical review on the bio-removal of hazardous heavy metals from contaminated soils: Issues, progress, eco-environmental concerns and opportunities. In *Journal of Hazardous Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.09.113>
32. Стійкість мікроорганізмів природних екосистем до репрезентативних токсичних металів [Текст] : автореф. дис. ... канд. біол. наук : 03.00.07 / Прекрасна Євгенія Петрівна ; НАН України, Ін-т мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного. - Київ, 2016. - 22 с.: рис. http://irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?&I21DBN=EC&P21DBN=EC&S21STN=1&S21REF=10&S21FMT=fullwebr&C21COM=S&S21CNR=20&S21P01=0&S21P02=0&S21P03=I&S21COLORT-ERMS=0&S21STR=%D0%A0%D0%90424357
33. Siddiquee, S., Rovina, K., & Azad, S. Al. (2015). Heavy Metal Contaminants Removal from Wastewater Using the Potential Filamentous Fungi Biomaspesticides: A Review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000243>

Pavlovska M., Solomenko L., Prekrasna IE (2021). ECOLOGICAL EVALUATION OF AQUATIC MICROORGANISMS ROLE IN XENOBIOTICS TRANSFORMATION WITH THE REFERENCE TO THE BLACK SEA. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 12(1): 66-74. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15097>. <https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.007>.

Abstract. *The present analytical review is dedicated to the current perspective of the issue of the Black sea xenobiotics pollution. The Black sea is extremely vulnerable to pollution impact, as it is a semi-closed water-body under the influence of significant inflow from the Danube, Dnipro and Dnister rivers.*

According to the recent data from the UNDP EMBLAS project 80 types of organic pollutants were identified in the Black Sea water samples. Those included 17 pesticides with the concentration above the safety thresholds both in the offshore and in the coastal waters.

It has been previously shown that xenobiotics' inflow results in taxonomic and functional shift of microbial communities inhabiting aquatic environment. Microbial-mediated degradation and biological pump control the polycyclic aromatic hydrocarbons' flux in marine ecosystems, which prevents their accumulation in the food web.

The data on xenobiotics pollution in both water column and sediments is summarized in the present review. The recent studies targeting the microbial communities' role in biotransformation and translocation of substances with xenobiotic behavior are analyzed. The significance and topicality of the case-studies focusing on aquatic microbial communities functional response towards xenobiotics' pollution is highlighted and the Black Sea ecosystem is suggested as the plausible example for addressing the above mentioned issues.

Keywords: *aquatic ecosystem, xenobiotics, pesticides, transformation, translocation, microbial communities.*

ЕФЕКТИВНІСТЬ ФОРМУВАННЯ І ФУНКЦІОНУВАННЯ СИМБІОТИЧНОЇ СИСТЕМИ СОЇ ЗА ОБРОБКИ ПОСІВІВ ГЛІФОСАТ

І. І. ГУМЕНЮК, кандидат біологічних наук,
завідувач лабораторії екології мікроорганізмів

А. С. ЛЕВІШКО, кандидат біологічних наук,
завідувач лабораторії екології вірусів та біобезпеки

О. С. ДЕМ'ЯНЮК, доктор сільськогосподарських наук,
професор, член-кореспондент НААН

Інститут агроекології і природокористування НААН, м. Київ, Україна

Анотація. У польових умовах досліджено ефективність формування та функціонування симбіотичної системи сої за обробки посівів гліфосатом та передпосівної інокуляції насіння різними штамами *Bradyrhizobium*. З урахуванням того, що гліфосат може впливати на симбіотичну азотфіксацію як через пряму дію на ризобії, так і на симбіотичні утворення, зразки рослин для аналізу відбирали через чотири тижні після кожної обробки гліфосатом та визначали надземну масу рослин, утворення симбіотичного апарату оцінювали за кількістю, масою бульбочок на їхніх коренях та активністю азотфіксації. Встановлено, що пізня обробка (через 35 дів після посіву) гліфосатами не забезпечує достатній рівень контролю чисельності бур'янів і за високої забур'яненості посівів гальмується розвиток і ріст рослин сої, зменшується наростання надземної й кореневої маси. Обробка рослин гліфосат до утворення симбіотичного апарату (через 21 добу після посіву) знижує активність азотфіксації на 35-50 %, але це не має істотного впливу на формування врожаю сої. Отримані результати підтвердили гіпотезу про інтенсифікацію нітрогенаного комплексу під час пізньої обробки рослин гліфосат, у рослин, інокульованих штамом *Bradyrhizobium japonicum* EL-35 та композицією штамів *B. japonicum* EM-24 та *B. japonicum* EL-35. Найефективнішою для інокуляції рослин сої була суміш досліджуваних штамів *B. japonicum* EM-24 та *B. japonicum* EL-35, яка забезпечує високу активність азотфіксації та продуктивність. Отже, для зменшення негативного впливу гліфосат на активність процесу азотфіксації симбіотичних систем та отримання високої продуктивності сої необхідно відібрати штами ризобій із високою швидкістю утворення симбіотичної системи, оскільки навіть незначне зниження азотфіксації може мати довготривалі негативні наслідки.

Ключові слова: гліфосат, соя, *Bradyrhizobium*, бульбочкові бактерії, інокуляція, азотфіксування.

Вступ.

Відомо, що найрозповсюдженішим та дешевим джерелом повноцінного білка є зернобобові культури, серед яких важливе господарське значення має соя (*Glycine max*). Це одна з найцінніших бобових культур. Соевий білок унікальний за своїми властивостями, містить незамінні амінокислоти і за складом наближається до білка тваринного походження та добре засвоюється організмом людини і тварин (Oehrle, 2008). Крім того, у зерні сої містяться жири, вуглеводи, мінеральні речовини, вітаміни. Такі важливі компоненти сої дають змогу широко використовувати продукти її переробки в харчуванні людини та годівлі тварин, а також застосовувати як сировину в інших галузях промисловості та медицини (Reganold, 2016; Тильба, 2012).

Офіційні статистичні дані свідчать, що у 2019 – 2020 рр. у світі було вироблено приблизно 336 млн т зерна сої. Приріст виробництва сої впродовж останніх 5 років складає 26 млн т або 8 %. Провідними світовими виробниками сої є Бразилія (123,0 млн т), Сполучені Штати Америки (96,6 млн т), Аргентина (53,0 млн т) і Китай (17,1 млн т). У світовому масштабі 81 % виробництва сої належить Бразилії, США та Аргентині. Європейським лідером за обсягом виробництва сої є Італія. В Україні у 2019 році виробництво сої становило 3,69 млн т із середньою врожайністю 22,9 ц/га (Державна служба статистики України. URL : <http://ukrstat.gov.ua>; Bohn, 2014).

Останніми роками генетично модифіковані (ГМ) рослини набули широкої популярності. Серед трансгенних культур найпоширенішими є соя, кукурудза, бавовна й рапс. Лідером

вважається соя, завдяки її функціональним властивостям, харчовій цінності та низькій собівартості завдяки створенню гліфосат-резистентних (Roundup Ready-RR) варіантів цієї культури (Arregui, 2004; Miyazaki, 2019). Відомо, що США та Аргентина виробляють майже виключно ГМ-сою. Сьогодні в Україні заборонено вирощувати ГМ рослини із комерційною метою та водночас не можна займатися вирощуванням для продажу сортів та ліній, які не внесені до державного реєстру сортів. Оскільки у вітчизняному реєстрі немає жодного такого сорту, то відповідно й вирощувати ГМО в Україні для продажу не можна.

ГМ рослини створюють для того, щоби змінити їхні агробіологічні показники, а саме: забезпечити стійкість до шкідників і хвороб, гліфосатів, засолення, екстремальних температур; стабілізувати якість кінцевої продукції; розв'язати проблему біопалива, вирішити питання очищення навколишнього природного середовища від полютантів. А головне – це дешевизна трансгенних продуктів харчування, що вирішує глобальну продовольчу проблему людства.

У глобальному масштабі, гліфосат-толерантна соя є номером один серед ГМ-культур. Гліфосат є найбільш широко використовуваним для вирощування даної культури, що призвело до швидкого розповсюдження сої стійкої до його впливу у всьому світі. На ринку цей вид сої широко присутній та продається під маркою «Roundup Ready» GTS 40-3-2 або RR-соя. Уперше гліфосатні властивості цієї речовини були виявлені в 1970 році Джоном Францем (компанія «Монсанто»). «Roundup» – торгова марка гліфосату (Benbrook, 2016).

Гліфосат (N-(фосфонометил)-гліцин, $C_3H_8NO_5P$) – є похідним амінокислоти гліцину та нині це найпоширеніший неселективний системний гліфосат у всьому світі (Benachour, 2009; Vecchio, 2009; Duke, 2012).

ГМ-соєя містить повну копію гену 5-енолпірувілшикімат-3-фосфат синтази з ґрунтової бактерії *Agrobacterium* sp. CP4. Це, власне, робить соєю стійкою до гліфосату, який широко застосовують на полях для боротьби з бур'янами (Natarajan, 2007; Saz, 2007).

Токсична дія гліфосату зумовлена інгібуванням ферменту 5-енолпірувілшикімат-3-фосфатсинтазу, який є компонентом ферментної системи шикіматного шляху біосинтезу бензоїдних ароматичних сполук та здійснює одну зі стадій перетворення шикімату в хоризмат, який є попередником трьох ароматичних протеїногенних амінокислот (фенілаланін, тирозин, триптофан), пара-амінобензоату та низки інших важливих метаболітів (фенолів, ароматичних кислот, алкалоїдів, фітогормонів та ін.). Гліфосат окуповує в активному центрі місце фосфоенолпірувату та блокує його активність. Тому, у разі потрапляння на рослину він проникає в клітини, блокує синтез важливих компонентів і спричиняє загибель рослини.

Відомо, що гліфосати, можуть негативно впливати на ґрунтові мікроорганізми, завдяки зміни в кількості та якості кореневих виділень оброблених рослин (Duke, 2012). Але також часто це залежить від активних та допоміжних речовин препарату, дози, кліматичних умов, типу ґрунту. Деякі дослідження показали, що гліфосат негативно впливає на ризобії та шкодить процесу нодуляції в бобових рослин. Вважають, що ризик токсич-

ності гліфосатів для мікроорганізмів вищий, ніж для рослин, внаслідок утворення продуктів метаболізму, які можуть інгібувати біохімічні процеси, пов'язані із симбіозом рослини та ризобій (Kremer, 2014). Токсичність гліфосату низька для тварин, але час напіврозпаду його в ґрунті може сягати 40 діб, що є достатнім для негативного впливу на процес нодуляції сої та ґрунтового мікробіому. Як уже було зазначено, гліфосат призводить до інгібування синтезу ароматичних амінокислот, що може бути причиною його токсичної дії на мікроорганізми (dos Santos, 2005). Проте, ще в 1986 році додаванням ароматичних амінокислот у поживне середовище показав, що ріст штамів *Rhizobium japonicum* не залежить від дії гліфосату (Moorman, 1986).

Результати роботи вчених демонструють токсичну дію, як безпосередньо, гліфосату, так і його допоміжних речовин присутніх у комерційних композиціях гербіцидів, що позначилося на розвитку багатьох ґрунтових та симбіотичних мікроорганізмів (Seminoti Jacques/de Oliveira Procópio, 2010). Так, деякі поверхнево-активні речовини (ПАР), можуть збільшити вплив гліфосату через видалення воскового шару рослин. Крім того, завдяки скороченню поверхневого натягу, полегшується проникнення гліфосат і бактерії можуть стати більш чутливими до його дії (Meena, 2020). Також було показало, що етиламін присутній у деяких гліфосатвмісних гербіцидах як ПАР сприяє більш швидкому проникненню гліфосат у клітини *Rhizobium* та пригнічує їхній ріст. Тобто, незважаючи на здатність стійких сортів постачати ароматичні амінокислоти до мікросімбіонта, додаткові речови-

ни, присутні в композиції гліфосатів, можуть негативно впливати на мікросимбіонта та процес азотфіксування (dos Santos, 2005).

Деякі наукові групи проводили дослідження з вивчення здатності ґрунтових бактерій метаболізувати гліфосат. Було показано, що *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp. та деякі представники *Rhizobiaceae*, у т.ч. *Sinorhizobium meliloti*, *Rhizobium trifolii*, *R. leguminosarum*, *Agrobacterium rhizogenes* і *A. tumefaciens* можуть його метаболізувати. Ці бактерії мають вуглець-фосфатліазу, яка гідролізує гліфосат, формуючи саркозин і неорганічний фосфат, що дає змогу їм використовувати гліфосат як єдине джерело фосфору (Meena, Kumar, 2020; Zablotowicz, 2003; Liu, 1991). Незважаючи на здатність деяких штамів *R. trifolii* до детоксикації гліфосату, його внесення в ґрунт (у кореневу зону) інгібує процес нодуляції конюшини червоної (*Trifolium pretense* L.), а також утворення бульбочок та знижує ацетиленвідновлювальну активність у конюшини підземної (*Trifolium subterraneum* L.). За одноразового внесення сублетальної дози гліфосату по вегетації, зменшується кількість бульбочок на 32 %, їхня маса на 75 % і вміст лег-гемоглобіну на 13 %, через два тижні після обробки рослин (Reddy, 2000). Варто зазначити, що навіть невелике зниження процесу фіксації азоту може мати довгострокові наслідки для сталого пулу азоту ґрунту, з огляду на широке поширення RR-сої.

Отже, аналіз результатів досліджень свідчить, що гліфосат може впливати на симбіотичну азотфіксацію як через пряму дію на ризобій, так і на симбіотичні утворення. Загалом, незважаючи на зростаючу популярність вирощування RR-сої, даних щодо утворення симбіозу цієї куль-

турою за обробки гліфосатом є суперечливою й недостатньою. Але всі дослідники одноголосно вважають, що взаємодія різних штамів мікросимбіотів може істотно різнитися, а тому вибір штамів ризобій толерантних до гліфосату та створення стійкого симбіотичного апарату в бобових культур є доволі актуальним питанням.

Тому, метою нашої роботи було дослідити ефективність формування і функціонування симбіотичної системи сої за умов обробки посівів гліфосатом за інокуляції насіння штамми *B. japonicum* ЕМ-24, *B. japonicum* EL-35 та їхньою сумішшю.

Матеріали і методи дослідження.

Дослідження проведено в Інституті агроєкології і природокористування НААН у 2018 – 2020 рр.

У дослідженнях використано рослини трансгенної сої лінії GTS 40-3-2 (розробник «Monsanto») для можливості використання гліфосат як альтернативної системи боротьби з бур'янами. Вирощування генетично модифікованої сої проводили із дотриманням вимог відповідно до Закону України «Про державну систему біобезпеки при створенні, випробуванні та використанні генетично модифікованих організмів», а також штамми бульбочкових бактерій *B. japonicum* ЕМ-24 і EL-35 та їх суміші.

Польові дослідження проводили на Сквирській дослідній станції органічного виробництва Інституту агроєкології і природокористування НААН (Київська обл.). Ґрунт – чорнозем типовий, з вмістом гумусу 4,3 %, легкогідролізного азоту (за Корнфілдом) 110 мг/кг; рухомих сполук фосфору (за Чиріковим) – 240 мг/кг і калію (за Чиріковим) – 85 мг/кг. Реакція ґрун-

1. Схема польового досліджу

№ варіанту	Варіант досліджу
1	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EM-24 (ручне прополювання)
2	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EL-35 (ручне прополювання)
3	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EM-24+EL-35 (ручне прополювання)
4	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EM-24 за умов обробки гліфосатом до утворення симбіотичного апарату
5	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EL-35 за умов обробки гліфосатом до утворення симбіотичного апарату
6	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EM-24+EL-35 за умов обробки гліфосатом до утворення симбіотичного апарату
7	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EM-24 за умов обробки гліфосатом після утворення симбіотичного апарату
8	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EL-35 за умов обробки гліфосатом після утворення симбіотичного апарату
9	Інокуляція <i>B. japonicum</i> EM-24+EL-35 за умов обробки гліфосатом після утворення симбіотичного апарату

тового розчину – 6,5. Облікова площа ділянок 10 м². Повторність триразова, розміщення – рендомізоване.

Насіння сої перед висівом у ґрунт інокулювали суспензією зазначених культур *Bradyrhizobium* однакової оптичної густини, яка складала 3×10⁸ кл/мл інокулянта. Посів сої проводили на глибину 3–5 см із розрахунку 700 тис. схожих насінин на 1 га.

Посіви сої обприскували розчином гліфосат у концентрації 3,5 л/га (рекомендована норма 2–5 л/га). Ранню обробку проводили через 21 добу після посіву (за появи масових сходів), пізню – через 35 діб після посіву. Рослини контрольних варіантів прополювали вручну. Схему польового досліджу наведено в таблиці 1.

Відбір зразків рослин для аналізу проводили через чотири тижні після кожної обробки гліфосатом. Визначали наземну масу рослин, оцінювали формування симбіотичного апарату за кількістю та масою бульбочок на їхніх коренях та їхньою азотфіксувальною активністю.

Азотфіксувальну активність визначали ацетилен-редуктазним методом (Hardy, 1968).

Обрахунок результатів дослідження виконано з використанням сучасного програмного забезпечення Statistica 8.0.

Результати дослідження та їх обговорення.

Дослідження наростання вегетативної маси сої показали, що рання обробка гліфосатом стимулює приріст надземної маси за інокуляції штамом *B. japonicum* EL-35 та сумішню обох досліджуваних штамів. На фоні пізньої обробки відбувається зниження надземної маси в усіх використаних варіантах інокуляції. Необхідно відмітити, що затримка росту рослин сої відбувалася ще до пізньої обробки рослин гліфосатом та внаслідок високої забур'яненості посівів.

Інокуляція сумішню штамів *B. japonicum* EM-24+EL-35 у контрольному варіанті без обробки гліфоса-

том, на початку бутонізації знижувала приріст вегетативної маси на 16 %, а на початку цвітіння – навпаки зафіксовано найвищий приріст 66 %.

Реакція штамів на пізню обробку рослин гліфосатом була подібною. Як було зазначено вище, незалежно від взятого для інокуляції штаму обробка посівів гліфосатом істотно пригнічувала накопичення вегетативної маси рослин сої (рис. 2). У варіанті дослід з інокуляцією штамом *B. japonicum* EM-24 відмічено гальмування росту сої відразу після ранньої обробки, але згодом негативний вплив гліфосату знижувався і приріст вегетативної маси становив 27 % порівняно з необробленими. На ріст рослин сої, інокульованих штамом *B. japonicum* EL-35, рання обробка гліфосатом не впливала, а з часом наземна маса рослин у цьому варіанті зростала на 47 %. Інокуляція сої сумішшю штамів *B. japonicum* стимулювала приріст вегетативної маси на 30 % одразу ж після ранньої обробки, але в подальшому надземна маса цих рослин була меншою за рослини, які не обробляли гліфосатом.

Аналіз динаміки наростання маси коріння показав тенденцію схожу із приростом вегетативної маси. Пізня обробка гліфосатом пригнічувала розвиток коренів, за виключенням варіанту, інокульованого сумішшю штамів (порівняно з *B. japonicum* EM-24). За умов ранньої обробки маса коренів рослин інокульованих *B. japonicum* EM-24 була найменшою. У контрольному варіанті (без обробки гліфосатом) на початку бутонізації найбільшу маса коріння фіксували в рослин, інокульованих *B. japonicum* EM-24, а на початку цвітіння – маса коріння цих рослин була найменшою.

Рослини сої, інокульовані штамом *B. japonicum* EM-24, формували менш розвинену кореневу систему з меншою масою в першому відборі (фаза бутонізації) з обома варіантами обробки гліфосатом (рис. 3). У фазі початку цвітіння маса коріння збільшувалася на 5–19 % відповідно за ранньої та пізньої обробки посівів гліфосатом.

У варіанті із передпосівною інокуляцією штамом *B. japonicum* EL-35 за умов обробки гліфосатом після фор-

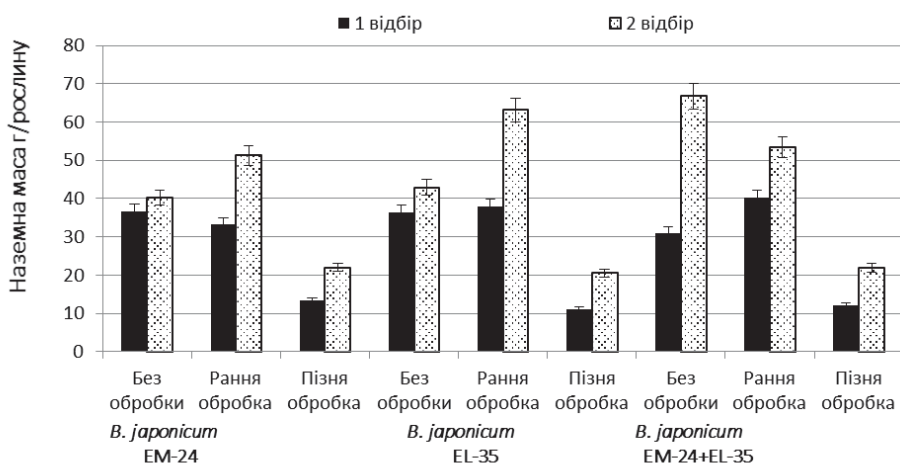


Рис. 1. Вплив інокуляції різними штамми *B. japonicum* на наростання вегетативної маси сої за умов обробки гліфосатом

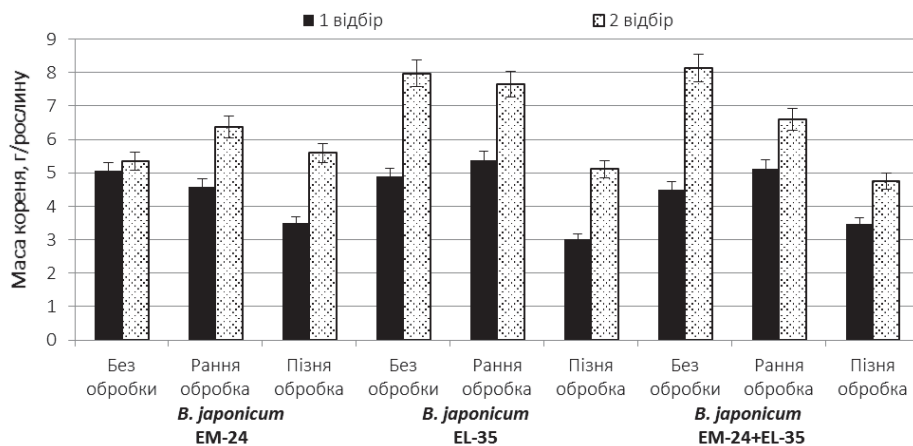


Рис. 2. Вплив інокуляції різними штамами *B. japonicum* на наростання маси кореня сої за умов обробки гліфосатом

мування симбіотичної системи (пізня обробка) фіксували зниження маси коріння на 36–39 %. Варто відмітити, що за ранньої обробки посівів гліфосатом істотного впливу на накопичення маси коріння за першого відбору не спостерігали, порівняно з контролем (без обробки гліфосатом).

У варіанті дослід з інокуляцією сумішшю штамів та обробкою посівів гліфосатом після утворення симбіотичного апарату маса коріння рослин була меншою на 33–42 % у першому та другому відборі, відповідно. За ранньої обробки гліфосатом фіксували збільшення маси коріння

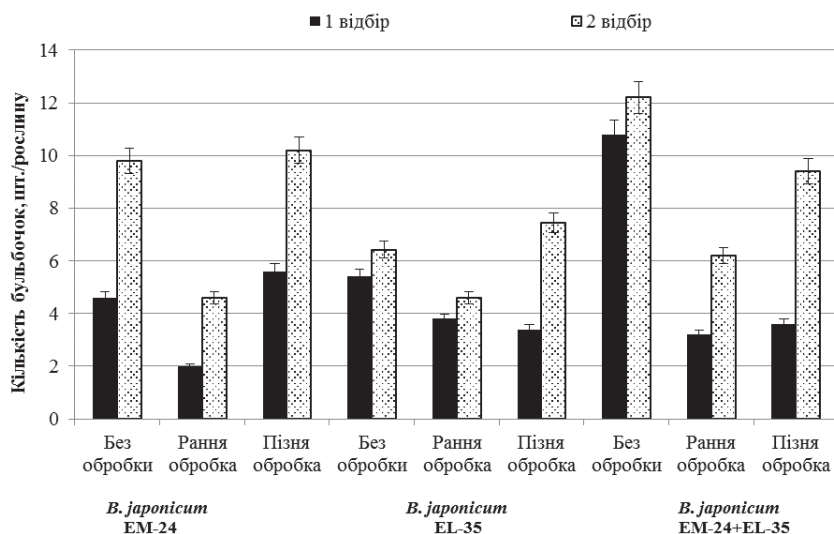


Рис. 3. Вплив інокуляції різними штамами *B. japonicum* на кількість бульбочок на коренях рослин сої за обробки посівів гліфосатом

на 14 %, але в подальшому наростання маси коріння гальмувалось і становило на 19 % менше, ніж у варіанті без застосування гліфосату.

Отже, отримані польові дані щодо наростання надземної вегетативної маси та маси кореня рослин сої свідчать про негативний вплив пізньої обробки гліфосатом на розвиток рослин. Але, затримка їхнього росту відбувалася ще до обробки рослин гліфосатом і, ймовірно, унаслідок високої забур'яненості посівів.

Після обробки цих рослин гліфосатом (2 відбір), вони дуже відставали в прирості вегетативної маси (на 69–45 %) та маси кореня (на 42–23 %). Найменший вплив цього чинника був у варіантах з інокуляцією сумішшю штамів та лише *B. japonicum* ЕМ-24.

Відомо, що критерієм ефективності комплементарної взаємодії макро- і мікросимбіонта є кількість та маса утворених кореневих бульбочок, яка за впливу гліфосатів може знижуватись 1,5–5 разів (Fan, 2017). За ранньої обробки посівів сої найбільшу

кількість бульбочок виявлено під час інокуляції штамом *B. japonicum* ЕЛ-35 у фазі бутонізації (перший відбір). У фазі початку цвітіння (2 відбір) штамом *B. japonicum* ЕМ-24 і ЕЛ-35 сформували однакову кількість бульбочок 3 шт./рослину, а за застосування суміші штамів – на 35 % більше.

Під час обробки рослин гліфосатом після утворення симбіозу (пізня обробка) максимальну кількість бульбочок спостерігали у варіанті з інокуляцією штамом *B. japonicum* ЕМ-24. За інокуляції сумішшю штамів (ЕМ-24 + ЕЛ-35) або лише штамом *B. japonicum* ЕЛ-35 кількість бульбочок зменшилась від 8 до 39 % за першого відбору.

Тобто основна кількість бульбочок утворювалася на початку бутонізації в рослин, без обробки гліфосатом або обробляли до формування симбіотичного апарату.

Обробка посівів гліфосатом до утворення симбіотичного апарату у варіанті з інокуляцією штамом *B. japonicum* ЕМ-24 спричинила зменшення утворення бульбочок на 53–57 % порівняно

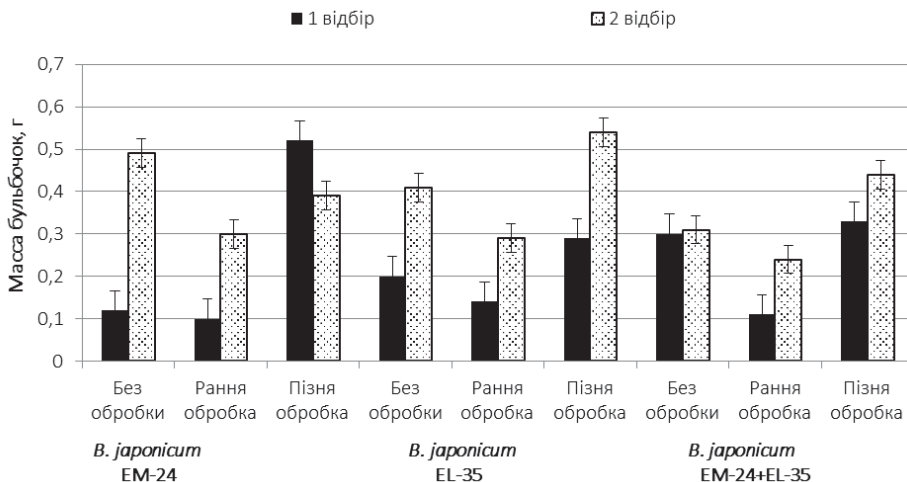


Рис. 4. Вплив інокуляції різними штамми *B. japonicum* на масу кореневих бульбочок сої за обробки посівів гліфосатом

з контролем (без обробки гліфосатом) (рис. 4). Пізня обробка не мала значного впливу на кількість утворених бульбочок у досліджуваних рослин.

У рослин, інокульованих штамом *B. japonicum* EL-35, за ранньої обробки гліфосатом на 28–30 % зменшувалось утворення бульбочок порівняно з контролем. Тоді як за пізньої обробки посівів на початку бутонізації їхня кількість зменшується до 3 шт./рослину, але на початку цвітіння – кількість бульбочок на корінні навпаки зростала на 16 %.

У варіанті досліду з інокуляцією сумішшю штамів відмічено зменшення кількості утворених бульбочок як за ранньої, так і пізньої обробки гліфосатом порівняно з необробленими рослинами в обох проведених відборах.

Рання обробка гліфосатом спричинила зниження приросту маси бульбочок у рослин, інокульованих сумішшю штамів лише у фазі початку цвітіння (2 відбір). У перший відбір (початок бутонізації) спостерігали, що рання обробка гліфосатом дала можливість сформувати найкра-

щий симбіотичний апарат, утворений за інокуляції *B. japonicum* EL-35.

За пізньої обробки гліфосатом фіксували зменшення маси бульбочок, що утворилися за інокуляції штамом *B. japonicum* EL-35 та сумішшю штамів порівняно з інокуляцією штамом *B. japonicum* EM-24. Але, необхідно відмітити, що рослини, інокульовані штамом *B. japonicum* EL-35 та сумішшю штамів, сформували найменшу кількість бульбочок. Тому, привертає увагу той факт, що маса бульбочок рослин, інокульованих вищезгаданими штамми є більшою, ніж маса бульбочок утворених за інокуляції рослин штамом *B. japonicum* EM-24.

З рисунка 5 видно, що рання обробка гліфосатом пригнічувала розвиток маси бульбочок, утворених за інокуляції штамом *B. japonicum* EM-24 на 17–39 % відповідно в 1 і 2 відборі. Пізня обробка препаратом, навпаки, спричинила збільшення їхньої маси в першому відборі втричі, проте в другому відборі – спостерігали зниження їхньої маси на 20 % порівняно з необробленими рослинами.

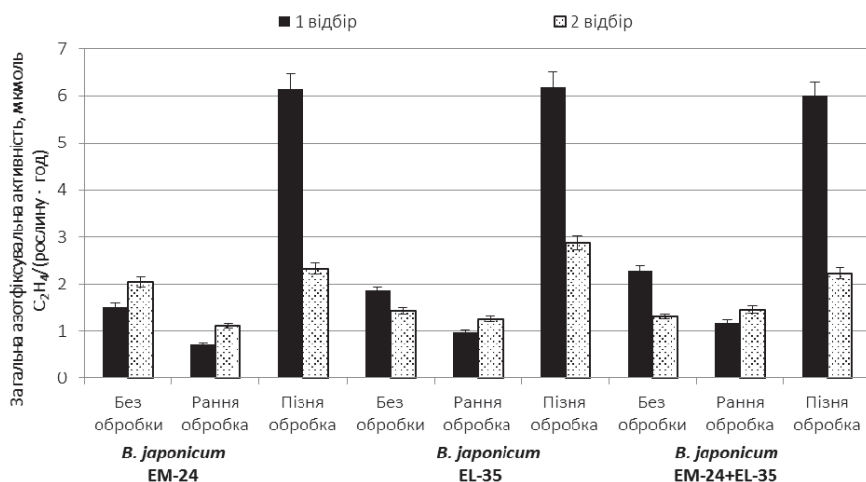


Рис. 5. Вплив інокуляції різними штамми *B. japonicum* на загальну азотфіксувальну активність сої за обробки посівів гліфосат

Зниження маси бульбочок на 30 % фіксували у варіанті з інокуляцією штамом *B. japonicum* EL-35 до фази початку цвітіння під час першого відбору.

За інокуляції сумішшю штамів спостерігали зниження маси бульбочок до 37 % за здійснення першого відбору під час ранньої обробки гліфосатом (порівняно з рослинами без обробки). І навіть у фазі цвітіння (2 відбір) їхня маса була меншою, ніж у необроблених рослин. За пізньої обробки гліфосатом приріст маси бульбочок, утворених сумішшю штамів, становив від 10 до 42 % відповідно за першого та другого відбору зразків.

Так, за пізньої обробки посівів гліфосатом рослини за першого відбору характеризувалися приростом маси бульбочок у всіх варіантах із застосуванням інокуляції порівнянні із необробленими рослинами. Також треба зауважити, що саме в даному відборі посіви сої мали високу забур'яненість. Тому, відповідне збільшення маси бульбочок у цей період ймовірно може бути пов'язане із кращим зберіганням вологи ґрунту.

Необхідно зазначити, що в рослин, не оброблених гліфосатом найвищу азотфіксувальну активність спостерігали в симбіотичній системі, сформованій за інокуляції насіння сої сумішшю штамів, на початку бутонізації та за інокуляції штамом *B. japonicum* EM-24 – на початку цвітіння.

Встановлено, що за обробки посівів гліфосатом до початку утворення симбіотичного апарату (рання обробка) у всіх відборах, високою азотфіксувальною активністю вирізнялися симбіотичні системи, сформовані сумішшю штамів *B. japonicum*. За пізньої обробки гліфосатом у першому відборі азотфіксувальна активність усіх варіантів інокуляції була майже однакова – на рівні 2,1–2,7 мкмоль C_2H_4 /рослину·год. У другому відборі азотфіксувальна активність за інокуляції штамом EL-35 була на 24 % вищою, ніж за активність симбіотичної системи, утвореної штамом *B. japonicum* EM-24, за пізньої обробки гліфосат.

На рисунку 6 показано, що рання обробка гліфосатом пригнічує азотфіксувальну активність симбіотичної сис-

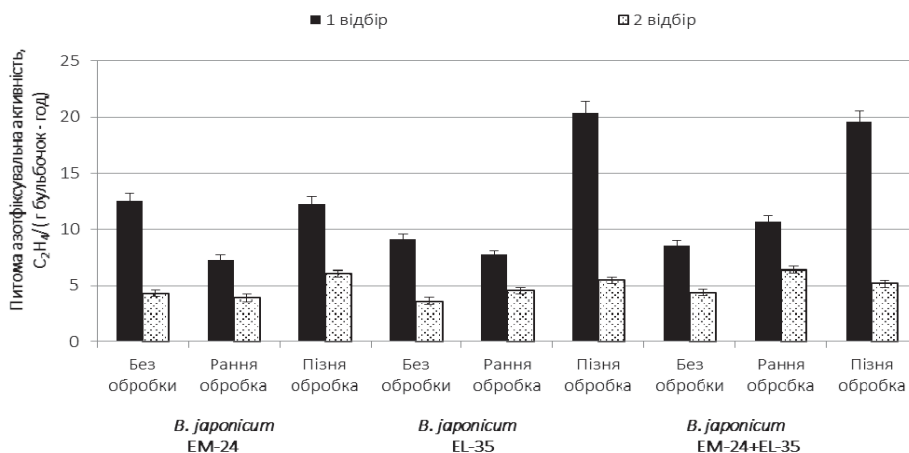


Рис. 6. Вплив інокуляції різними штамми *B. japonicum* на питому азотфіксувальну активність сої за обробки посівів гліфосат

теми, утвореної за використання всіх досліджуваних штамів *B. japonicum* як у суміші, так і окремо (порівняно із симбіотичними системами рослин, які не були ним оброблені). Виключення становили рослини в другому відборі, інокульовані сумішшю штамів, де азотфіксувальна активність зросла на 11 %, ніж без обробки гліфосатом.

За пізньої обробки гліфосатом фіксували збільшення азотфіксувальної активності в усіх інокульованих рослин – від 13 до 30 %. Варто відмітити, що у фазі бутонізації (перший відбір) азотфіксувальна активність була у 2,7 разів вищою, ніж у фазі цвітіння (другий відбір). Як було зазначено вище, у цьому варіанті обробки гліфосатом на початку бутонізації істотно збільшувалась маса бульбочок, але не відбувалося збільшення їхньої кількості. Це, ймовірно, свідчить, що в даному випадку відбувається інтенсифікація роботи нітрогеназного комплексу. Для перевірки цього припущення зроблено перерахунок загальної азотфіксувальної активності в питому азотфіксувальну активність.

Аналіз питомої азотфіксувальної активності показав, що найнижчий її рівень серед рослин, не оброблених гліфосатом, спостерігали за інокуляції насіння штамом *B. japonicum* EL-35. Рання обробка гліфосатом не мала негативного впливу на цей показник у всіх варіантах інокуляції. Найвищий рівень питомої азотфіксувальної активності зафіксовано у варіанті із передпосівною інокуляцією сумішшю штамів *B. japonicum*. За пізньої обробки гліфосатом збільшення питомої активності у фазі бутонізації становило 66 та 59% для *B. japonicum* EL-35 та суміші штамів відповідно та зменшувалось у фазі цвітіння у варіанті з інокуляцією сумішшю штамів та лише штамом *B. japonicum* EL-35 (1 відбір).

Встановлено, що за ранньої обробки посівів найбільше пригнічення питомої азотфіксувальної активності симбіотичної системи відбувалося за інокуляції штамом *B. japonicum* EM-24 (рис. 7). Обробка гліфосатом після утворення симбіотичного апарату не впливала на питому азотфіксувальну активність у фазі бутонізації та навпаки збільшувала її на 53 % у фазі цвітіння під час здійснення першого відбору.

Для рослин, інокульованих штамом *B. japonicum* EL-35, та оброблених гліфосатом до утворення симбіотичного апарату характерним було зменшення питомої азотфіксувальної активності у фазі бутонізації та збільшення у фазі цвітіння порівняно з варіантом без обробки гліфосатом. Інокуляція рослин сумішшю штамів *B. japonicum* показала позитивний результат за обох термінів обробки посівів гліфосатом. Отримані результати підтвердили наше припущення щодо інтенсифікації нітрогеназного комплексу за пізньої обробки посівів гліфосатом у рослин, інокульованих штамом *B. japonicum* EL-35 та сумішшю штамів (EM-24 + EL-35). Також, потрібно зазначити, що у фазі початку цвітіння рослини, інокульовані сумішшю штамів, мали вищу питому азотфіксувальну активність за ранньої обробки порівняно із пізньою.

Загальновідомим є той факт, що основним інтегральним показником впливу різних чинників, у даному випадку обробки гліфосатом «до» або «після» утворення симбіотичного апарату, на життєдіяльність рослин є їхня продуктивність. Аналіз отриманих даних показав, що рання обробка гліфосатом після утворення симбіотичного апарату істотно знижує продуктивність рослин сої. Рання обробка гліфосатом (ще до утворення симбіотичного апарату) не мала значного впливу на врожайність сої (табл. 2).

2. Урожайність зерна сої за обробки гліфосат та інокуляції штамми *B. japonicum*

Варіант досліджу		Урожайність зерна, ц/га
Обробка посівів гліфосатом	інокуляція насіння штамами <i>B. japonicum</i>	
Контроль (без обробки гліфосатом)	ЕМ-24	41,6±0,2
	ЕЛ-35	42,0±0,8
	ЕМ-24+ЕЛ-35	41,1±0,8
Рання (до утворення симбіотичного апарату)	ЕМ-24	39,8±1,5
	ЕЛ-35	40,9±1,4
	ЕМ-24+ЕЛ-35	39,2±1,4
Пізня (після утворення симбіотичного апарату)	ЕМ-24	28,3±1,6
	ЕЛ-35	28,5±1,8
	ЕМ-24+ЕЛ-35	24,2±1,3

Не зважаючи на істотне зростання азотфіксувальної активності в рослин, які обробляли гліфосатом після утворення симбіотичного апарату, гальмування розвитку їх надземної маси та коренів унаслідок високої забур'яненості посівів негативно вплинуло на врожайність. Також можна стверджувати, що навіть за негативного впливу гліфосат на симбіоз, кількість фіксованого ризобіями азоту є достатньою для формування врожайності зерна на рівні 24,2-42,0 ц/га. Але, кількість азоту, який залишається в ґрунті в даному випадку доволі низька, що знижує позитивну роль бобових рослин у формуванні родючості ґрунту та необхідно це враховувати в майбутньому.

Отже, пізня обробка посівів гліфосатом не є ефективною, а висока забур'яненість посівів гальмує ріст і розвиток рослин сої, знижуючи як вегетативну, так і кореневу масу. Обробка рослин гліфосатом до утворення симбіотичного апарату знижує азотфіксувальну активність, але це немає значного впливу на формування врожаю зерна сої. Встановлено, що найефективнішою для рослин сої є іноку-

ляція сумішшю штамів *B. japonicum* ЕМ-24 + ЕЛ-35, яка забезпечує високу азотфіксувальну активність та продуктивність. Для зменшення негативного впливу гліфосат на азотфіксувальну активність симбіотичних систем та отримання високих врожаїв зерна сої необхідно проводити селекцію штамів ризобій, які здатні швидше утворювати симбіоз, оскільки навіть незначне зниження рівня фіксації азоту може мати довгострокові непередбачувані наслідки для формування загального пулу азоту ґрунту та його родючості.

Висновки і перспективи.

Встановлено, що за обприскування посівів гліфосатом до початку утворення симбіотичного апарату (рання обробка) високу азотфіксувальну активність мали симбіотичні системи, утворені за інокуляції насіння сої сумішшю штамів *B. japonicum* (ЕМ-24 + ЕЛ-35). За пізньої обробки посівів у фазі бутонізації азотфіксувальна активність за всіх варіантів інокуляції штамми *B. japonicum* була майже на одному рівні (6,0 мкмоль C_2H_4 /рослину·год).

Однак, у фазі цвітіння азотфіксувальна активність за інокуляції штамом EL-35 була на 24 % вищою, ніж за активність симбіотичної системи з *B. japonicum* ЕМ-24 за пізньої обробки посівів сої гліфосат.

Найбільшу пригнічувальну дію гербіциду гліфосат за ранньої обробки посівів встановлено на питому азотфіксувальну активність симбіотичної системи, утвореної штамом *B. japonicum* ЕМ-24. Отримані результати підтвердили нашу гіпотезу щодо інтенсифікації нітрогеназного комплексу в рослин сої, інокульованих штамом *B. japonicum* EL-35 та сумішню штамів ЕМ-24 + EL-35, за пізньої обробки гліфосатом. Рослини, інокульовані сумішню штамів у фазі початку цвітіння мали вищу питому азотфіксувальну активність за раннього застосування гліфосат, ніж за пізнього його внесення. Отже, не зважаючи на істотне зростання азотфіксувальної активності в рослин, які обробляли гліфосатом, після утворення симбіотичного апарату, гальмування розвитку їхньої вегетативної маси та коренів у результаті високого забур'янення посівів негативно вплинуло на формування врожаю зерна. Також можна стверджувати, що навіть за негативного впливу розчину гліфосат на симбіотичну систему, кількість фіксованого ризобіями азоту є достатньою для формування врожаю на рівні 24,2-42,0 ц/га. Але, кількість азоту, який залишається в ґрунті, у даному випадку є доволі низькою, що знижує функцію бобових рослин у забезпеченні формування родючості ґрунту.

Список літератури

1. Oehrle, N.W., Sarma, A.D., Waters, J.K., Emerich, D.W. (2008). Proteomic analysis of soybean nodule cytosol. *Phytochemistry*, 69(13). 2426-2438. DOI: 10.1016/j.phytochem.2008.07.004.
2. Reganold, J.P.; Wachter, J.M. (2016). Organic agriculture in the twenty-first century. *Nat. Plants*, 3(2). 1-8. DOI: 10.1038/nplants.2015.221
3. Тильба, В.А., Синеговская, В.Т. (2012). Роль симбиотической азотфиксации в повышении фотосинтетической продуктивности сои. Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук, 5. 16-18. DOI: 10.25230/2412-608X-2019-4-180-119-123.
4. Державна служба статистики України. URL: <http://ukrstat.gov.ua>
5. Bohn, T., Cuhra, M., Traavik, T., Sanden, M., Fagan, J., Primicerio, R. (2014). Compositional differences in soybeans on the market: Glyphosate accumulates in Roundup Ready GM soybeans. *Food Chemistry*, 153. 207-215. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.12.054.
6. Arregui M.C., Lenardón A., Sanchez D., Maitre M.I., Scotta R., Enrique S. (2004). Monitoring glyphosate residues in transgenic glyphosate-resistant soybean. *Pest Manag. Sci.*, 60. 163-166. DOI: 10.1002/ps.775.
7. Miyazaki, J., Bauer-Panskus, A., Bohn, T. (2019). Insufficient risk assessment of herbicide-tolerant genetically engineered soybeans intended for import into the EU. *Environmental Science Europe*, 31(92). 1-21. DOI: 10.1186/s12302-019-0274-1.
8. Benbrook, C.M. (2016). Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environmental Science Europe*. 28(3). 1-15. DOI:10.1186/s12302-016-0070-0.
9. Benachour, N., Séralini, G.E. (2009). Glyphosate formulations induce apoptosis and necrosis in human umbilical, embryonic and placental cells. *Chem. Res. Toxicol*, 22(1). 97-105. DOI: 10.1021/tx800218n.
10. Vecchio, L., Cisterna, B., Malatesta, M., Martin, T E, Biggiogera M. (2009). Ultrastructural analysis of testes from mice fed

- on genetically modified soybean. *Eur. J. Histochem*, 48. 449-453. DOI: 10.4081/920.
11. Duke, S.O., Lydon, J., Koskinen, W.C., Moorman, T.B., Chaney, R.L., Hamerschmidt R. (2012). Glyphosate Effects on Plant Mineral Nutrition, Crop Rhizosphere Microbiota, and Plant Disease in Glyphosate-Resistant Crops. *J. Agric. Food. Chem*, 60(42). P. 10375–10397. DOI: 10.1021/jf302436u.
 12. Natarajan, S., Bae, C., Xu, H. (2007). Proteomic and genetic analysis of glycinin subunits of sixteen soybean genotypes. *Plant Physiol Biochem*, 45(6-7). 436-444. DOI: 10.1016/j.plaphy.2007.03.031.
 13. Saz, J.M., Marina, M.L. (2007). High performance liquid chromatography and capillary electrophoresis in the analysis of soybean proteins and peptides in foodstuffs. *J. Sep. Sci*, 30(4). 431-451. DOI: 10.1002/jssc.200600247.
 14. Kremer, R.J. (2014). Environmental implications of herbicide resistance: soil biology and ecology. *Weed Sci*, 62. 415-426. DOI: 10.1614/WS-D-13-00114.1.
 15. dos Santos, J.B., Ferreira, A., Kasuya, M.C.M., da Silva, A.A., de Oliveira Procópio, S. (2005). Tolerance of Bradyrhizobium strains to glyphosate formulations. *Crop. Protection*, 24. 543-547. DOI:10.1016/j.cropro.2004.10.007.
 16. Moorman, T.B. (1986). Effect of herbicides on the survival of Rhizobium japonicum strains. *Weed. Sci*, 34. 628-633. DOI:10.1017/S0043174500067564.
 17. Seminoti Jacques, R.J., de Oliveira Procópio, S., dos Santos, J.B., Kasuya, M.C.M., da Silva, A.A. (2010). Sensitivity of Bradyrhizobium strains to glyphosate. *Rev. Ceres. Viçosa*, 57(1). 28-33. DOI: 10.1590/S0034-737X2010000100006.
 18. Meena, R.S., Kumar, S., Datta, R. (2020). Impact of Agrochemicals on Soil Microbiota and Management: A Review. *Land*, 9(34). 1-21. DOI: 10.3390/land9020034.
 19. Zablotowicz, R.M., Reddy, K.N. (2003). Impact of glyphosate on the Bradyrhizobium japonicum symbiosis with glyphosate-resistant transgenic soybean: a minireview. *J. Environ. Qual*, 33. P. 825-831. DOI: 10.2134/jeq2004.0825.
 20. Liu, C.M., McLean, P.A., Sookdeo, C.C., Cannon, F.C. (1991). Degradation of the herbicide glyphosate by members of the family Rhizobiaceae. *Appl. Environ. Microbiol*, 57(6). 1799-1804. DOI: 10.1128/AEM.57.6.1799-1804.1991.
 21. Reddy, K.N., Hoagland, R.E., Zablotowicz, R.M. (2000). Effect of glyphosate on growth, chlorophyll content and nodulation in glyphosate-resistant soybeans (Glycine max) varieties. *J. New Seeds*, 2. P. 37-52. DOI: 10.1614/0043-1745(2003)051[0496:GSRTVS]2.0.CO;2.
 22. Hardy, R.W., Holsten, R.D., Jackson, E.K., Burns, R.S. (1968). The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant physiol*, 43(8). 1185–1207. DOI: 10.1104/pp.43.8.
 23. Fan, L., Feng, Yu., Weaver, D., Delaney, D., Wehtje, G., Wang, Gu. (2017). Glyphosate effects on symbiotic nitrogen fixation in glyphosate-resistant soybean. *Applied Soil Ecology*, 121. 11-19. DOI:10.1016/j.apsoil.2017.09.015. 10.1614/0043-1745(2003)051[0496:GSRTVS]2.0.CO;2.

I. Gumeniuk, A. Levishko, O. Demyanyuk (2021). EFFICIENCY OF FORMATION AND FUNCTIONING OF THE SYMBIOTIC SOYBEAN SYSTEM WITH GLYPHOSATE TREATMENT. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 12(1): 75-89.
<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15098>.
<https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.008>.

Abstract. *The efficiency of the formation and functioning of the soybean symbiotic system during the crops treatment with glyphosate and pre-sowing seed inoculation with different strains of Bradyrhizobium in the field studied. It is known, that glyphosate can affect symbiotic nitrogen fixation through direct action on rhizobia and symbiotic formations, we took plant samples for analysis after four weeks of glyphosate treatment and determined the aboveground mass of plants and symbiotic apparatus formation evaluated by the number of nodules, their mass and nitrogen fixation activity. It was shown that the late treatment (35 days after sowing) with glyphosate does not provide a sufficient level of weed control and under such conditions inhibits the development and growth of soybean plants, reduces the growth of aboveground and root mass. Treatment of plants with glyphosate before the formation of symbiotic apparatus (21 days after sowing) reduces nitrogen fixation activity by 35-50 %, but it does not have a significant effect on the formation of soybean yield. The obtained results confirmed the hypothesis of intensification of the nitrogen complex during late treatment of plants with glyphosate in plants inoculated with Bradyrhizobium japonicum strain EL-35 and the composition of strains of B. japonicum EM-24 and B. japonicum EL-35. The most effective for inoculation of soybean plants was a mixture of the studied strains of B. japonicum EM-24 and B. japonicum EL-35, which provides high nitrogen fixation activity and productivity. Therefore, to reduce the negative impact of glyphosate on the nitrogen fixation activity of symbiotic systems and to obtain high soybean productivity, it is necessary to select rhizobia strains with a high rate of symbiotic system formation, because even a slight decrease in nitrogen fixation can have long-term negative consequences.*

Keywords: *glyphosate, soybean, Bradyrhizobium, nodule bacteria, inoculation, nitrogen fixation.*

ОЦІНКА ПРОСТОРОВОГО РОЗПОДІЛУ ПОПУЛЯЦІЇ СОНЯШНИКОВОЇ ШИПОНОСКИ *MORDELLISTENA* *PARVULA* GYLL. У ПОСІВАХ СОНЯШНИКУ В УМОВАХ ПІВДЕННОГО СТЕПУ УКРАЇНИ

С. Ю. МОРОЗ аспірант, кафедри інтегрованого захисту
і карантину рослин

Національний університет біоресурсів і природокористування України
<https://orcid.org/0000-0001-9394-0664>

А. В. ФОКІН, доктор сільськогосподарських наук
<https://orcid.org/0000-0002-6872-0421>

Національний університет біоресурсів та природокористування України
E-mail: SergeyMoroz95@ukr.net

Анотація. За оцінкою розподілу соняшnikової шипоноски оптимізувати методи моніторингу та встановити просторову локалізацію осередків скупчення фітофага з метою підвищення ефективності заходів регулювання його чисельності. Обліки соняшnikової шипоноски проводили після збирання урожаю не менш як у 20 місцях поля на ділянках 1x1 м проводили відбір біологічного матеріалу, а саме стебла та прикореневі їх частини, які розтинали вздовж і підраховували кількість личинок у кожному стеблі, проводили обліки зламаних рослин на висоті 50-60 см. Для аналізу розподілу (рівномірний, випадковий, контагіозний) популяції соняшnikової шипоноски на посівах гібриду F1 «Сонячний Настрій» використовувалися моделі Сведберга та Ллойда. За параметрами моделей Сведберга та Ллойда оброблялися дані отримані в результаті суцільних обстежень по квадратах поля (сітка) та W-подібних маршрутних обстежень.

За оцінки розподілу за неповною інформацією значення коефіцієнтів Сведберга та Ллойда за просторового розподілу складає 1,708 та 1,604 для W-маршруту з коригуванням чисельності за площею ділянок та 1,692 та 1,596 без коригування відповідно, що дає значення контагіозного та випадкового розподілу. Застосування лінійного варіанту оцінки розподілу дає контагіозний розподіл для

моделей Сведберга та Ллойда для 1 вектору й рівномірний для 2 та 3. За оцінки розподілу за повної інформації (варіант «сітки») просторовий розподіл Ллойда - 0,657 та Сведберга - 0,957 рівномірний, але для останнього дуже наближений до випадкового. Лінійний розподіл за Сведбергом змінюється від контагіозного - 1,287 до рівномірного - 0,916 і 0,447, а за Ллойдом - від випадкового - 1,237 до рівномірного - 0,499 і 0,014. За умови неповної інформації поліноміальні тренди дозволяють визначити величину невизначеності розподілу, як геометричну відстань між точками перетинів трендів з оптимізаційною прямою 45о та рівнями контагіозності Сведберга і випадковості Ллойда.

Ключові слова: комахи-фітофаги, соняшник, обліки, випадковість, рівномірність, контагіозність, моделі Сведберга та Ллойда, крайовий ефект.

Актуальність.

У структурі посівних площ України, культура соняшнику на відміну від інших технічних культур, характеризується Найбільшою рентабельністю. Згідно з Державної службою статистики України, видно, що Посівні площі з початку 90-х років постійно збільшувалися і наразі складають 5,8 га. Водночас необхідно зазначити, що основна частина площ, а це понад 40,0 % припадає на частку південних регіонів України.

Очевидно, що така ситуація супроводжується кардинальним порушенням технологій вирощування культури, недотримання сівозмін і інших технологічних прийомів.

Як наслідок, врожайність соняшнику досить низька й коливається в межах від 1,5 до 2,0 т/га. Серед стресових чинників, крім іншого, що обмежують урожайність і якість культури є насамперед шкідлива діяльність фітофагів, захворювань, а також значна засміченість посівів бур'янами.

Тому необхідним є визначення просторового розподілу комах-фітофагів є, з одного боку, важливою характеристикою популяційної екології,

а з іншого – ефективним інструментом оптимізації технологій захисту рослин. Причому обидва підходи тісно перетинаються. Так, наприклад, підхід до просторового розподілу з позицій ландшафтної екології (Dichenko, et.al., 2015; Zhukov et.al., 2013) дає можливість оцінити зовнішні характеристики місце існувань, що приваблюють особин, не відповідаючи його справжнім властивостям – так званих екологічних пасток, які виникають завдяки впливу антропогенних чинників, що так само суттєво змінюють продуктивність і захисні властивості місце існування, але водночас залишають без змін його зовнішній вигляд (Hanski, 2010). Екологічні пастки є важливим елементом у системі «агроценоз – екотон – агроценоз», що впливає на фітосанітарний стан екотону (Fokin, 2015). В певних випадках вони є конструктором екотону, формує специфічне біорізноманіття. Просторовий розподіл ентомологічних об'єктів є цінним інструментом для визначення ступеня перфорації екотонів, зміни їхнього регулюючого значення (ентомофаги, ентомопатогени) для популяцій комах-фітофагів (Fokin, et. al., 2018) фрактальної фітосанітарної ді-

агностики агроценозу (Kramarenko & Zhukov, 2014; Fokin, 2015). Водночас виявлені тісні зв'язки між динамікою чисельності популяцій шкідників та динамікою ландшафтного різноманіття (Dichenko et. al., 2015), показана роль як чинника динаміки чисельності фітофагів просторово-часової динаміки рослинного покриву (Zhukov et. al., 2015; Zhukov et. al., 2015). Усе це різноманіття досліджень досить складних питань, пов'язаних із просторовими розподілами, у практиці захисту рослин від комах-фітофагів зводиться до більш практичного завдання встановлення осередків скупчення особин того чи іншого виду на площі агроценозу, встановлення екологічних локацій з урахуванням особливостей агроландшафту: мікрорельєфу, мікроклімату. Останнє має значення для оптимізації технологій захисту рослин, а відтак зменшення пестицидного тиску на агроценоз, зменшення вартості рослинної продукції. Для оцінювання просторового розподілу було запропоновано низку коефіцієнтів, які мали на меті допомогти екологам встановити статистичні межі, за якими розподіл із випадкового чи рівномірного набуває ознак групового (контагіозного) (Whittaker, 1980): індекси Одума (Сведберга), Морісіта, індекс дисперсії Соутвуда (для оцінки просторового розподілу на основі одноразового обліку), рівняння Тейлора, метод Івао (для багаторазових обліків) (Kramarenko, 2004), Ллойда (Fokin, 2005) – переважна більшість названих критеріїв базується на використанні значень дисперсії; для отримання адекватних даних щодо розподілу ґрунтових тварин – застосування варіограм, індексу Морана, тесту Мантеля, а також SADIE-статистики (Gongalsky, et. 2009) тощо.

Потрібно сказати, що методи ці мають різний ступінь точності та порівняння їх, перевірка адекватності щодо опису розподілу популяцій для кожного виду є важливою частиною досліджень.

Мета досліджень. За оцінкою розподілу соняшникової шипоноски оптимізувати методи моніторингу та встановити просторову локалізацію осередків скупчення фітофага для підвищення ефективності заходів регулювання його чисельності.

Матеріали і методи досліджень.

Обліки соняшникової шипоноски проводили за загальноприйнятою методикою: після збирання урожаю не менш як у 20 місцях поля на ділянках 1 x 1 м збирали стебла та прикореневі їхні частини, які розтинали вздовж і підраховували кількість личинок у кожному стеблі (Omelyuta et. al., 1986). Також проводили обліки пошкоджень – зламаних рослин на висоті 50-60 см. Для аналізу розподілу популяції соняшникової шипоноски на посівах гібриду F1 «Сонячний Настрій» (оригініатор – «Всеукраїнський науковий інститут селекції») використовувалися моделі Сведберга та Ллойда. Модель Сведберга (K_c) передбачає визначення розподілу за відношенням дисперсії до середнього, водночас використовується така шкала значень: за $K_c < 1$ – розподіл рівномірний (P), за $K_c = 1$ – випадковий (B) і за умови, коли K_c значно > 1 ($> 1,1$) – груповий або контагіозний (K). Модель Ллойда (K_d) для встановлення закономірностей розподілу передбачає використання відношення ($S^2 - X + X^2$) до середнього X за умови $K_d]0; 1[$ – рівномірний, $K_d [1; 2[$ – випадковий та $K_d [2; + [$ – контагіозний

(. За параметрами моделей Сведберга та Ллойда оброблялися дані отримані в результаті суцільних обстежень по квадратах поля (сітка) та W-подібних маршрутних обстежень. Останні обраховувалися як із застосуванням статистичного коригування ділянок за чисельністю шипоноски (личинок / рослину) – через зміну показника чисельності на величину облікової ділянки, що різниться від середньої площі (W-mk), так і за результатами безпосередніх обліків, проведених у тій чи іншій точці поля (W-m).

Результати досліджень та їх обговорення.

Для аналізу розподілу популяції соняшникової шипоноски були обрані моделі Сведберга та Ллойда (рис.1). Фактично вони відрізняються лише за розміром зони випадковості, якщо для першого вона дорівнює 1, то для другого охоплює діапазон від 1 до 2. Модель Ллойда передбачає

більш високу ймовірність випадкових значень розподілу.

Оцінка розподілу за неповною інформацією. Як бачимо з даних таблиці 1 значення K_c та K_d за просторового розподілу складає 1,708 та 1,604 для W-маршруту з коригуванням чисельності за площею ділянок та 1,692 та 1,596 без коригування відповідно, що дає значення контагіозного та випадкового розподілу. Застосування лінійного варіанту оцінки розподілу дає контагіозний розподіл для моделей Сведберга та Ллойда для 1 вектору й рівномірний для 2 та 3 (табл. 2).

Перетинання графіків (рис. 2) лінійного розподілу з рівнем просторового – контагіозності Сведберга дають локалізацію цієї контагіозності в межах агроценозу (як проекція на вісь X): у нашому випадку між векторами – смугами 1 та 2. Крім того, вони перетинають і оптимізаційну лінію 45°.

Потрібно відзначити, що рівень випадковості Ллойда дуже наближений до рівня контагіозності: різни-

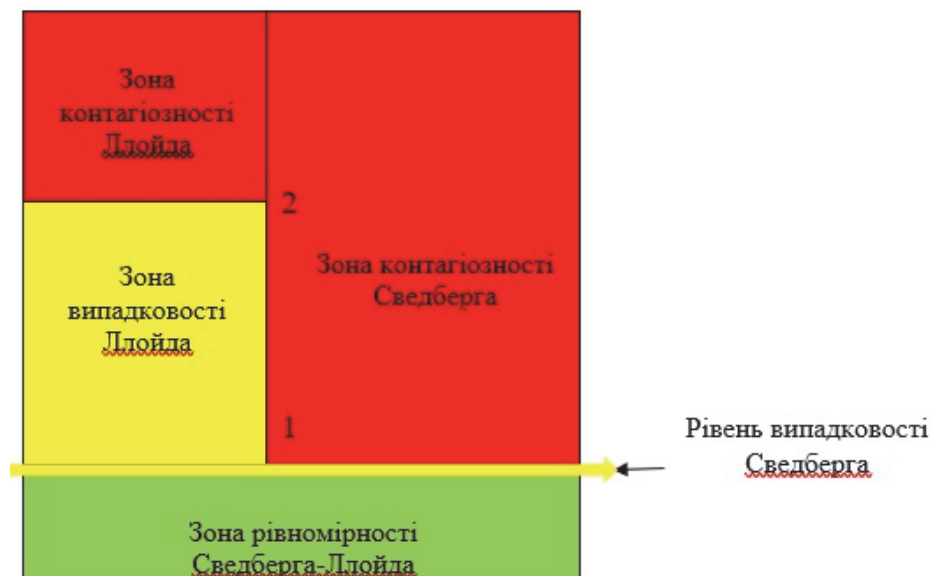


Рис. 1. Структура розподілів за моделями Сведберга та Ллойда

1. Просторовий розподіл соняшникової шипоноски за різними методиками проведення обліків (ТОВ «Айленд», Херсонської обл., 2020 р.)

Метод обліку	Значення коефіцієнта		Розподіл, K_c/K_n	Умова відповідності розподілу
	Сведберга, K_c	Ллойда, K_n		
W-mk	1,708	1,604	К/В	$K_c > 1,1$ $K_n [1; 2[$
W-m	1,692	1,596	К/В	$K_c > 1,1$ $K_n [1; 2[$
Сітка, 3 x 12	0,957	0,657	Р/Р	$K_c < 1$ $K_n]0; 1[$

2. Лінійний розподіл соняшникової шипоноски за різними методиками проведення обліків (ТОВ «Айленд», Херсонської обл., 2020 р.)

Метод обліку та вектор	Значення коефіцієнта K_c / K_n	Розподіл, K_c/K_n	Умова відповідності розподілу
W-mk 1 2 3	3,356/3,556 0,619/0,089 0,271/0,291	К/К Р/Р Р/Р	$K_c > 1,1$ $K_n [2; + [K_c < 1$ $K_n]0; 1[$
W-m 1 2 3	3,356/3,556 0,615/0,264 0,065/0,314	К/К Р/Р Р/Р	$K_c > 1,1$ $K_n [2; + [K_c < 1$ $K_n]0; 1[$
Сітка, 3 x 12 1 2 3	1,287/1,237 0,916/0,499 0,447/0,014	К/В Р/Р Р/Р	$K_c > 1,1$ $K_n [1; 2[$ $K_c < 1$ $K_n]0; 1[$

ця між ними становить для варіанту W-mk – 0,104, а без коригування чисельності шипоноски – 0,096.

Імовірність (P_1) того, що випадковість Ллойда може виявитися рівномірністю Сведберга-Ллойда у варіанті W-m становить 0,596, а імовірність (P_2) того, що контагіозність Сведберга може виявитися випадковістю Ллойда - 0,308. Для варіанту W-mk показники P_1 та P_2 становлять 0,604 та 0,292 відповідно. Різниця між ними для W-m становить 0,288, а для W-mk – 0,312 - це є імовірністю невизначеності розподілу, або, іншими словами, 28,8 та 31,2 % помилки у визначенні контагіозності завдяки зростанню гетерогенності

середовища. Це може мати місце або в природних екосистемах, або в агро-екосистемах із підвищеним рівнем гетерогенності. Ознаками останніх можуть бути: мікрорельєф, вологість ґрунту, забезпеченість рослин макро- і мікроелементами, забур'яненість.

Отже, вибір критерію, за яким оцінюється розподіл фітофагів пов'язаний із рівномірністю умов вирощування культури.

Поліноміальні тренди дають змогу визначити величину невизначеності розподілу, як геометричну відстань між точками А і В, які знаходяться на перетині трендів з оптимізаційною прямою 45° та рівнями контагіозності Сведберга і випадковості Ллойда. Перетин із

прямою 45° , дає можливість визначити, що $y = x$, де y відповідає значенню K_c та K_d просторового розподілу, за координатами точок А і В знаходимо відстань між ними. Чим менше значення невизначеності тим більш адекватний опис розподілу (табл. 3).

Оцінка розподілу за повної інформації. За варіанту «сітки» просторовий розподіл Ллойда (0,657) та Сведберга (0,957) рівномірний, але для остан-

нього дуже наближений до випадкового. Лінійний розподіл за Сведбергом змінюється від контагіозного (1,287) до рівномірного (0,916 і 0,447), а за Ллойдом – від випадкового (1,237) до рівномірного (0,499 і 0,014) (табл. 2).

У випадку «сітки», тобто за умови повної інформації, лінійні тренди в точках перетинів із РРС та РРЛ не лежать на оптимізаційній прямій 45° . Відстань між рівнями рівномірності

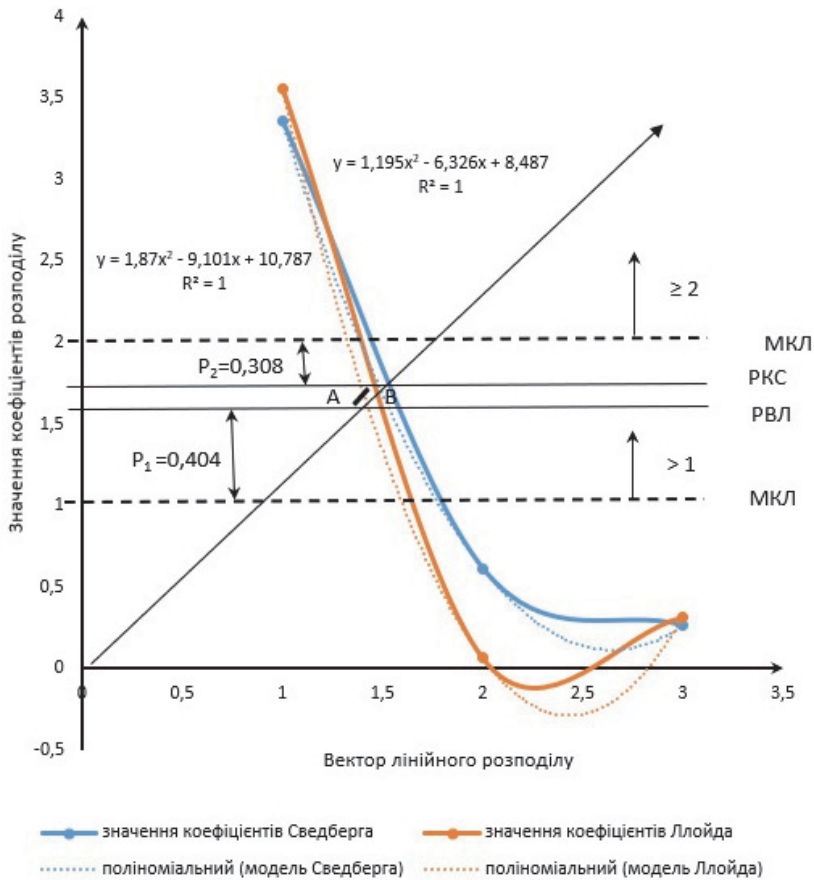


Рис.2. Графічна модель об'єднання просторового та лінійного розподілів популяції соняшникової шипоноски за умови неповної інформації на прикладі варіанту W-m

МКЛ – межа контагіозності Ллойда; РКС – рівень контагіозності Сведберга (1,692); РВЛ – рівень випадковості Ллойда (1,596);

МКС – межа контагіозності Сведберга; АВ – невизначеність розподілу

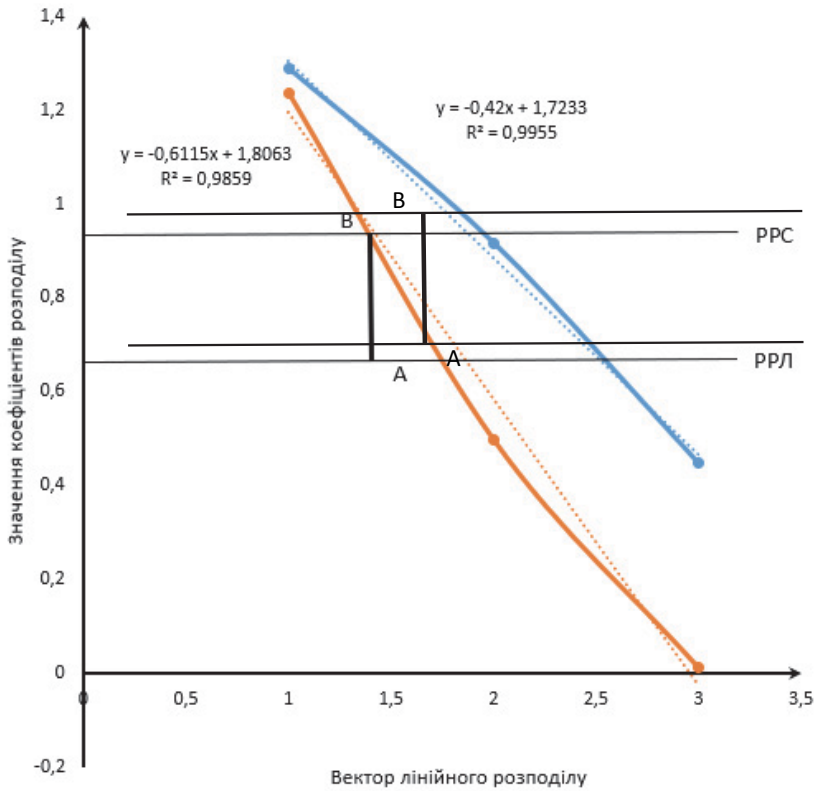


Рис. 3. Графічна модель об'єднання просторового та лінійного розподілів популяції соняшникової шипоносики за умови повної інформації («сітка» обліків)

РРС – рівень рівномірності Сведберга (0,957); РРЛ – рівень рівномірності Ллойда (0,657); АВ – невизначеність розподілу

Ллойда та Сведберга більша – 0,3 (рис. 3) і практично збігається зі значенням невизначеності 0,3057 (табл. 3). Невизначеність тут є тому, що значення

рівномірності Сведберга 0,957 дуже наближене до рівня випадковості 1,0.

Як бачимо, найменше значення невизначеності відповідає методу W-m

3. Оцінка методів моніторингу за значенням невизначеності розподілу

Метод обліку	Рівняння тренду моделі		Значення невизначеності
	Сведберга	Ллойда	
W-m	$y=1,195x^2-6,326+8,487$; $y=x=1,692$	$y=1,87x^2-9,101+10,787$; $y=x=1,596$	0,1357645
W-mk	$y=1,195x^2-6,3205+8,482$; $y=x=1,708$	$y=1,8345x^2-8,9705+10,692$; $y=x=1,604$	0,1470782
Сітка, 3 x 12	$y=-0,42x+1,7233$; $y=0,957$; $x=1,82$	$y=-0,6115x+1,8063$; $y=0,657$; $x=1,8279$	0,3057

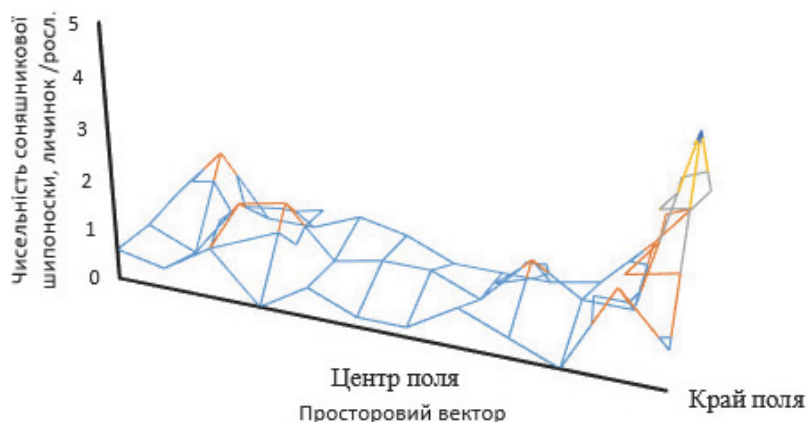


Рис. 4. Крайовий ефект у розподілі соняшникової шипоноски в агроценозі за умови повної інформації («сітка» обліків)

за поліноміальної моделі тренду, який і визначається найбільш адекватним для умови неповної інформації. Невизначеність за умови повної інформації («сітка») – лінійна модель тренду – дорівнює різниці між рівнями рівномірності моделей Сведберга та Ллойда.

«Сітка» даних обліків дає можливість також виявити крайові ефекти в просторовому розподілі популяції фітофага (рис.4). Як видно на прикладі соняшникової шипоноски її чисельність максимальна в крайовій смузі, що межує з лісосмугою, а в центрі агроценозу найменша.

Висновки і пропозиції.

За умови неповної інформації визначено, що за моделлю Сведберга просторовий розподіл шипоноски є контагіозним, а Ллойда – випадковим, лінійний розподіл для обох моделей змінюється від контагіозного до рівномірного; за умови повної інформації визначено, що за моделями Сведберга-Ллойда просторовий розподіл шипоноски є рівномірним, лінійний розподіл для моделі Сведберга

змінюється від контагіозного до рівномірного, Ллойда – від випадкового до рівномірного; за умови неповної інформації поліноміальні тренди дають можливість визначити величину невизначеності розподілу, як геометричну відстань між точками перетинів трендів з оптимізаційною прямою 45° та рівнями контагіозності Сведберга і випадковості Ллойда; за умови повної інформації лінійні тренди дають можливість визначити величину невизначеності розподілу, як геометричну відстань між точками перетинів трендів із рівнями рівномірності Сведберга-Ллойда; оцінка просторового розподілу популяції за умови повної інформації є найбільш оптимальною, оскільки дає змогу визначити крайові ефекти.

References

1. Gongalsky K.B., Zaitsev A.S., Savin F.A. (2009). Spatial distribution of soil animals: a geostatistical approach. *Journal of General Biology*, (Vol. 70, 6, pp. 484-494).
2. Dichenko O. Yu, Pisarenko P.V., Kunah O.M., Zhukov O.V. (2015). Spatial agroecology as a basis for predicting the number of pests.

- Dnipropetrovsk: DNU, 139. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/280315940_Prostorova_agroekologiya_ak_osnova_proгнозу_ciselnosti_skidnikiv DOI: 10.13140/RG.2.1.1014.4485
3. Zhukov A.V., Kunah O.N., Zadorozhnaya G.A., Andrushevich E.V. (2013). Landscape ecology as a basis for spatial analysis of agroecosystem productivity. *Ecology and noospherology*, (Vol. 24, 1-2, pp. 68-80).
 4. Zhukov O.V., Pisarenko P.V., Kunah O.M., Dichenko O.Yu. (2015). Assessment of variation in space and time of vegetation cover by means of remote sensing of the Earth. *Journal of the Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University*, 2(36), 105-112
 5. Zhukov O.V., Pisarenko P.V., Kunah O.M., Dichenko O.Yu. (2015). The role of landscape diversity in the population size dynamics of the borage populations in the Poltava region. *Journal of the Dnipropetrovsk University. Biology. Ecology*, 23, (Vol 1, pp. 21-27).
 6. Kramarenko S.S. (2004). Methods for estimating the absolute density and spatial. Retrieved from <http://www.ievbras.ru/ecostat/Kiril/Article/A18/Vol1/Kramar1.html>
 7. Kramarenko S.S., Zhukov A.A. (2014). Fractal analysis of the spatial structure of terrestrial mollusk populations. *Journal of the Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic University*, 1(33), 32-41.
 8. Omelyuta V.P., Grigorovich I.V., Chaban V.S., Pidoplichko V.N. Kalenich F.S., Petruha O. Y. and Chernenko O.O. (1986). *Accounting of Pests and Diseases of Agricultural Crops*. Kyiv: Urozhay.
 9. Whittaker R. (1980). *Communities and Ecosystems*. Moscow: Progress, 1980. 328 c.
 10. Fokin A.V. (2005). *Parasitoid wasp Latibulus argiolus Rossi. Behavior and ecology*. Kiev: Publishing house "Kolobig", 2005. 80 c.
 11. Fokin A.V. (2015). Principles of fractal phytosanitary diagnostics of agroecosystem. *Quarantine and Plant Protection*, 4, 16-18.
 12. Fokin A.V., Sakhnenko V.V., Sakhnenko D.V. (2018). Modelling of ecotone in accordance with mosaic characteristics of modern entomocomplexes on winter wheat. *Scientific reports of NUBIP of Ukraine*, 5(75). Retrieved from <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Dopovidi/article/view/11668>.
 13. Hanski I. (2010). *The slipping world. Ecological consequences of habitat loss*. Moscow: Scientific Publishing House KMK.

S. Yu. Moroz, A.V. Fokin (2021). ASSESSMENT OF THE SPATIAL DISTRIBUTION OF THE SUNFLOWER TUMBLING BEETLE POPULATION. BIOLOGICAL SYSTEMS:

THEORY AND INNOVATION, 12(1): 90-99. <http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/editor/submission/15099>. <https://doi.org/10.31548/biologiya2021.01.009>.

Abstract. We have evaluated the distribution of the sunflower tumbling beetle (STB) to optimize the methods of its monitoring and to establish the spatial localization of the phytophage concentration in order to increase the efficiency of measures to regulate its abundance. We counted the STB after harvest at least in 20 points of the field; we collected stems and their root parts in plots 1x1 m, opened them and counted the number of larvae in each stem; we also counted broken plants at a height of 50-60 cm. Svedberg and Lloyd models used to analyze the distribution (uniform, random, contagious) of the STB population on the crops of F1 hybrid "Sonyachny Nastriy". The data obtained as a result of solid - by field squares (grid) and W-like route surveys processed according to their parameters. The last ones was process both with application of statistical correction of plots according to the number of the STB (larvae / plant) - by changing the index of abundance by the size of an accounting plot, which is different from the average area, and by results of direct counts carried out in one or another point of the field.

The distribution can be spatial - within the entire agrocenosis, and linear - within the vector (strip of registration plots). It can also be based on complete (grid data) or incomplete (en-route counts) information. Lloyd's model assumes a higher probability of random values of distribution. When estimating the distribution based on incomplete information, the values of the Swedberg and Lloyd coefficients for the spatial distribution are 1.708 and 1.604 for W-route with area-adjusted abundance and 1.692 and 1.596 without adjustment respectively, which gives values of contagious and random distribution. Applying the linear version of the estimate gives a contagious distribution for the Swedberg and Lloyd models for the 1st vector and an even distribution for the 2nd and 3rd vectors. When estimating the distribution based on complete information (the "grid" variant), the spatial distribution of Lloyd - 0.657 and Swedberg - 0.957 is uniform, but for the latter it is very close to the random distribution. The linear distribution by Swedberg varies from contagious - 1.287 to uniform - 0.916 and 0.447, and by Lloyd - from random - 1.237 to uniform - 0.499 and 0.014. Given incomplete information, the polynomial trends allow us to determine the magnitude of the uncertainty in the distribution as the geometric distance between the points of intersection of the trend lines with the 45° optimization line and the Swedberg contagion and Lloyd's randomness levels. Provided the information is complete, linear trends allow us to determine the magnitude of the uncertainty in the distribution as the geometric distance between the points of intersection of the trend lines with the Swedberg-Lloyd uniformity levels. "Grid" of these counts allows revealing marginal effects in spatial distribution of phytophage population, the number of which is maximal in the marginal strip bordering the forest belt, and minimal in the center of agrocenosis. Under the condition of incomplete information it was found that according to Swedberg criterion the spatial distribution of the STB is contagious and Lloyd's is random, the linear distribution for both models changes from contagious to uniform; under the condition of full information it is found that on the basis of Swedberg-Lloyd models the spatial distribution of the stonefly is uniform, linear distribution for the Swedberg model changes from contagious to uniform, Lloyd - from random to uniform; estimation of the spatial distribution of the population on the basis of full information is the most optimal because it allows to determine the marginal effects.

Keywords: phytophagous, sunflower, measurements, randomness, uniformity, контагиозность, Swedberg and Lloyd models, marginal effect.
