

**ПОРІВНЯННЯ МІКРОБІОМІВ ДВОХ РІЗНИХ ЕКОТИПІВ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ ЗОНИ
ВІДЧУЖЕННЯ: ПУНКТІВ ТИМЧАСОВОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ РАДІОАКТИВНИХ ВІДХОДІВ
(ПТЛРВ) ТА ЗАБРУДНЕНИХ ЕКОСИСТЕМ**

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України (м. Київ)

²Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України (м. Київ)

yuliyaruban24@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. У статті подано результати досліджень, отримані в ході виконання науково-дослідної роботи на кафедрі радіобіології та радіоекології Національного університету біоресурсів і природокористування України. Теми НДР «Закономірності впливу радіонуклідного забруднення території на біорізноманіття ґрунтової мікрофлори» (№ державної реєстрації 0116U001585, 2016-2018 рр.) та «Вивчення поведінки та прогнозування стану мікрофлори на об'єктах ядерного-паливного циклу» (№ державної реєстрації 0117U002646, 2017-2019 рр.).

Вступ. Навколишнє середовище є складною неподільною системою з численними взаємопов'язаними компонентами. У разі вилучення чи зміни одного компоненту – змінюється вся система. За роки існування людини навколишнє середовище зазнало чимало змін, пов'язаних з вирубок дерев, перетворенням земель на сільськогосподарські угіддя та забрудненням важкими металами [1].

Чутливість та стійкість компонентів системи формують характер її «відповіді», що виражається у низці змін видового та популяційного складу [2].

З робіт, присвячених впливу антропогенних чинників, відомо, що у таких компонентів екосистеми як мікроорганізми, рослини та тварини, різна відповідь на шкідливі чинники [3-5].

Пункти тимчасової локалізації радіоактивних відходів (ПТЛРВ) – території прилеглі до ЧАЕС, загальною площею близько 10 га, на яких у процесі першочергових заходів з ліквідації наслідків Чорнобильської аварії створювалися траншеї та бурти для локалізації радіоактивних відходів (РАВ).

Здебільшого такі РАВ представляли собою забруднені внаслідок аварійного викиду будівельні конструкції, предмети побуту, верхній шар ґрунту тощо. На території зони відчуження знаходяться дев'ять ПТЛРВ: «Станція Янів», «Нафтобаза», «Піщане плато», «Рудий ліс», «Стара Будбаза», «Нова Будбаза», «Прип'ять», «Копачі», «Чистоголівка» [6].

Фізико-хімічна форма частинки у ПТЛРВ нічим не відрізняється від опадів по всій території зони відчуження. За винятком одного – гарячі частинки були захоронені під шаром піску близько 1 м. Іншими словами, частинки були «законсервовані» без доступу світла та кисню, але, водночас, дуже близько до мікрофлори ґрунту [7]. Такий тісний контакт з радіонуклідами призводить до витіснення радіочутливих видів та заміни їх на радіостійкі види [8].

Мікроорганізми виконують багато різноманітних функцій, у тому числі мінералізують органічні рештки, перетворюючи їх у форми, доступні для проду-

центів, тому вони істотно впливають на перерозподіл поживних речовин у екосистемах [9-11].

Вивчення змін у мікроценозах дає змогу відкрити нові природні механізми захисту біоти від забруднення навколишнього середовища поллютантами, підвищення резистентності живих організмів до стресових чинників. Дослідження біорізноманіття антропогенно-створеного об'єкта з різними типами іонізуючого випромінювання дає змогу зрозуміти шляхи, якими мікроценози можуть пристосовуватися до стресових умов, і, можливо, навіть адаптувати деякі з них для використання людиною з метою ремедіації забруднених радіонуклідами територій.

Таким чином, вивчення особливостей таксономічного складу територій, що зазнали забруднення радіоактивними речовинами, дозволить у подальшому робити припущення щодо змін у мікробних угрупованнях та їх вплив на зміни, що також будуть відбуватися в екосистемах.

Мета дослідження. Основною метою представленої роботи було охарактеризувати зміни біорізноманіття мікроорганізмів під впливом іонізуючого випромінювання радіоактивних відходів у місцях їх локалізації.

Об'єкт і методи дослідження. У ході роботи основним об'єктом дослідження були мікробні угруповання забруднених радіонуклідами територій Чорнобильської зони відчуження.

Характеристика точок відбору зразків

Для оцінки компонентного складу використовували ґрунти зони відчуження ЧАЕС: ПТЛРВ «Рудий ліс», ПТЛРВ «Чистоголівка» та ближніх територій (Дитятки, Залісся). Відбір проб ґрунту здійснювали протягом серпня 2017 р.

З кожної точки відбирали три індивідуальних зразка в радіусі одного метра з глибини 10 см. Верхній шар рослинного покриву знімався перед відбором проб. Відібрані проби зберігали до аналізу при -20°C.

Визначення основних агрохімічних характеристик ґрунту

Для достовірного опису впливу чинників навколишнього середовища на кількісний склад ґрунтової мікрофлори проводилася оцінка основних агрохімічних показників ґрунту.

Гумус визначали за методом Тюріна [12].

Кислотність (рН) сольового екстракту визначали потенціометрично із застосуванням скляного електрода. Співвідношення ґрунт: розчин = 1:2,5 для мінеральних ґрунтів і 1:25 для органічних (ГОСТ 26483-85).

Визначення рухомого калію та фосфору проводили за методом Кірсанова. Вміст калію визначали

за допомогою полум'яного фотометра (ГОСТ 26207-91), а кількісне визначення P_2O_5 проводили колориметрично за методом Денігера [13].

Легкогідролізований азот визначали за методом Корнфілда. Ґрунт інкубували з 1 N розчином NaOH в термостаті при 28°C протягом двох діб. Утворений аміак поглинався розчином H_3BO_3 та кількісно визначався титруванням 0,1 N розчином H_2SO_4 [13].

Питома активність ^{137}Cs в попередньо підготовлених пробах ґрунту визначали на високоефективному гамма-спектрометрі «ADCAM-300» з напівпровідниковим детектором із високоочищеною германією GEM-30185 (виробництво EG&G ORTEC, США) і багатоканальним аналізатором ASPEC-927 і програмним забезпеченням GammaVision 32 («EG & ORTEC», США). Активність ^{137}Cs вимірювали по лінії гамма-випромінювання 661,66 кеВ.

Виділення і секвенування ДНК з ґрунту

Загальну геномну ДНК виділяли за допомогою набору реактивів PowerSoil® DNA Isolation Kit (MO BIO Laboratories, Carlsbad, США) відповідно до протоколу виробника [14]. Концентрація і якість екстрагованої ДНК були перевірені з використанням Qubit 2.0 Fluorimeter (Invitrogen Corporation, Carlsbad, США). Зразки ДНК було ампліфіковано з праймерами для 16S рРНК, на приладі Illumina MiSeq (Illumina Inc., США) з набором баркодів, рекомендованих виробником для 16S рРНК аналізів.

Біоінформатична обробка результатів

У результаті секвенування амплікону 16S рРНК було отримано 5 файлів у форматі *.fastq, прямі й зворотні ріди для кожного зразка. Контроль якості отриманих даних проводився з використанням FastQC з відкритим вихідним кодом. Для подальшого аналізу використовували тільки прямі ріди. Для обробки даних використовували запатентовану послідовність дій (www.mrdnalab.com, MR DNA) спільно з біоінформатичним сценарієм QIIME з відкритим кодом [15].

Статистичну значимість отриманих результатів було перевірено за допомогою програм Microsoft Excel 2016 та R з використанням пакетів Bioconductor [16] та vegan [17]. Кореляцію оцінювали за Пірсоном, достовірність коефіцієнтів перевіряли за допомогою критерію Ст'юдента. Відмінності у вмісті основних нутрієнтів у зразках та кількості копій бактеріальних генів 16S рРНК серед місць відбору проб оцінювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (One-way ANOVA). Рівень статистичної значущості становив $p=0,05$. Ґрунтуючись на таксономічній анотації, послідовності були згруповані на рівні Порядку. Розрахунок альфа-різноманіття, включаючи Chao1 та Shannon визначали за допомогою пакету програм QIIME.

Результати досліджень та їх обговорення. Для оцінки впливу чинників навколишнього середовища на кількісний склад ґрунтової мікрофлори важливим є оцінка основних агрохімічних показників ґрунту, які представлені у таблиці 1.

Точки відбору проб були обрані за допомогою бази даних УкрНДІ сільськогосподарської радіології НУБіП України [18,19],

Таблиця 1 – Основні агрохімічні характеристики точок відбору зразків

| Місце відбору зразків | Питома активність ^{137}Cs , Бк/кг | pH _{водн} | P_2O_5 , мг/кг | K_2O , мг/кг | NH_4 , мг/кг | Гумус, % |
|-------------------------|--------------------------------------|--------------------|------------------|----------------|----------------|----------|
| Залісся, ліс | 133±17 | 3,8 | 98 | 23 | 33,6 | 0,95 |
| Дитятки, ліс | 1410±154 | 3,6 | 18 | 28 | 51,8 | 1,57 |
| Чистогалівка, ліс | 12500±1263 | 3,6 | 13 | 23 | 37,8 | 0,84 |
| Рудий ліс поза траншеєю | 33700±3404 | 3 | 4 | 16 | 56 | 2,52 |
| Рудий ліс траншея | 86600±8660 | 4,5 | 50 | 37 | 74,2 | 1,98 |

що дало змогу виділити максимально подібні за ґрунтовими умовами біогеоценози.

pH ґрунту точок забруднених екосистем: «Дитятки» та «Залісся» становив 3,8 та 3,6 відповідно. У той час pH ґрунту точок ПТЛРВ «Чистогалівка», «Рудий ліс» поза траншеєю – 3,6 та 3,0. Така кисла реакція є типовою для дерново-підзолистих ґрунтів поліської зони України. Виключенням склала точка «Рудий ліс» траншея, де pH водної витяжки ґрунту склав 4,5 що відповідає групі кислих ґрунтів.

Вміст гумусу коливався в межах від 0,95% до 1,57%. Винятком можна вважати ґрунт на території Рудого лісу з траншеї/поза траншеєю, де вміст гумусу був відносно високим і складав 2,52% і 1,98% відповідно.

Щодо забезпеченості основними елементами живлення, варто відзначити, що вміст азоту коливається від 33,6 мг/кг ґрунту у с. Залісся до 74,2 мг/кг ґрунту на території траншеї у Рудому лісі, що добре узгоджується із даними щодо вмісту гумусу. Хоча кількісні показники вмісту азоту відрізняються в 2,5 рази, однак всі вони відносяться до групи дуже низької забезпеченості.

Показники в цілому знаходилися в межах типових для показників дерново-підзолистих, слабо- і середньо опідзолених суглинків, які широко розповсюджені в Поліссі України.

За результатами дослідження вмісту ^{137}Cs було виявлено, що найменш забрудненим є ґрунт, відібраний біля с. Залісся, де питома активність становить 133±17 Бк/кг, у той час, як найзабрудненішою виявилася територія «Рудого лісу». Так на траншеї активність ^{137}Cs складала 86600±8660 Бк/кг.

Проведені біоінформатичні дослідження дозволили ідентифікувати 4600 представників ґрунто-

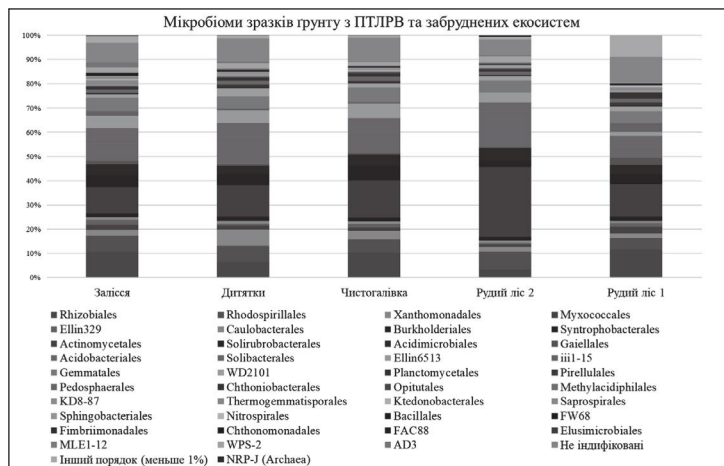


Рисунок – Вміст рідів мікрофлори у зразках ґрунту, відібраних з ПТЛРВ та забруднених радіонуклідами територій (на таксономічному рівні Порядку).

Таблиця 2 – Мікробіоми зразків ґрунту з ПТЛРВ та забруднених екосистем на рівні Порядку

| Назва Відділу | Назва Порядку | Загальна кількість рідів | | | | |
|--------------------------|------------------------------|--------------------------|---------|----------------|-------------|-------------|
| | | Залісся | Дитятки | Чистогогалівка | Рудий ліс 2 | Рудий ліс 1 |
| Proteobacteria | <i>Rhizobiales</i> | 23143 | 15308 | 18401 | 6308 | 38217 |
| | <i>Rhodospirillales</i> | 14346 | 16350 | 9220 | 13247 | 15645 |
| | <i>Xanthomonadales</i> | 5341 | 15938 | 5864 | 3483 | 6136 |
| | <i>Myxococcales</i> | 4794 | 4087 | 2349 | 2152 | 8564 |
| | <i>Ellin329</i> | 4403 | 2373 | 2643 | 1294 | 5444 |
| | <i>Caulobacteriales</i> | 2356 | 2491 | 1971 | 1529 | 2393 |
| | <i>Burkholderiales</i> | 2166 | 2832 | 1638 | 712 | 4713 |
| Actinobacteria | <i>Syntrophobacteriales</i> | 1006 | 1516 | 1097 | 2147 | 1806 |
| | <i>Actinomycetales</i> | 23763 | 31008 | 26320 | 52236 | 43256 |
| | <i>Solirubrobacterales</i> | 10320 | 10927 | 10525 | 4767 | 13390 |
| | <i>Acidimicrobiales</i> | 10119 | 8053 | 7962 | 9769 | 12456 |
| Acidobacteria | <i>Gaiellales</i> | 3098 | 1762 | 1280 | 468 | 9886 |
| | <i>Acidobacteriales</i> | 15264 | 26524 | 14581 | 27161 | 14188 |
| | <i>Solibacterales</i> | 14424 | 14610 | 10432 | 6553 | 15276 |
| | <i>Ellin6513</i> | 10832 | 12233 | 10335 | 7590 | 5174 |
| Planctomycetes | <i>iii1-15</i> | 4062 | 2284 | 1011 | 102 | 12468 |
| | <i>Gemmatales</i> | 12416 | 11795 | 10492 | 9033 | 15621 |
| | <i>WD2101</i> | 2469 | 8032 | 3044 | 2932 | 6358 |
| | <i>Planctomycetales</i> | 1079 | 2034 | 1154 | 367 | 2247 |
| Verrucomicrobia | <i>Pirellulales</i> | 688 | 1517 | 731 | 705 | 3516 |
| | <i>Pedosphaerales</i> | 2740 | 3819 | 2983 | 2629 | 4620 |
| | <i>Chthoniobacteriales</i> | 2638 | 3073 | 2241 | 1444 | 8129 |
| | <i>Opitutales</i> | 538 | 625 | 873 | 497 | 674 |
| Gemmatimonadetes | <i>Methylacidiphilales</i> | 310 | 740 | 371 | 1117 | 184 |
| Chloroflexi | <i>KD8-87</i> | 708 | 463 | 358 | 9 | 504 |
| | <i>Thermogemmatisporales</i> | 4084 | 757 | 13 | 44 | 645 |
| Bacteroidetes | <i>Ktedonobacteriales</i> | 1221 | 375 | 834 | 612 | 864 |
| | <i>Saprosiriales</i> | 2145 | 1502 | 1294 | 838 | 3743 |
| Nitrospirae | <i>Sphingobacteriales</i> | 910 | 1403 | 557 | 220 | 1119 |
| Firmicutes | <i>Nitrospirales</i> | 57 | 13 | 0 | 0 | 2561 |
| | <i>Bacillales</i> | 1476 | 773 | 522 | 408 | 1302 |
| Armatimonadetes | <i>FW68</i> | 305 | 208 | 110 | 179 | 56 |
| | <i>Fimbriimonadales</i> | 235 | 139 | 55 | 107 | 249 |
| | <i>Chthonomonadales</i> | 111 | 138 | 154 | 26 | 427 |
| Elusimicrobia | <i>FAC88</i> | 326 | 649 | 80 | 0 | 746 |
| | <i>Elusimicrobiales</i> | 62 | 206 | 61 | 437 | 49 |
| Cyanobacteria | <i>MLE1-12</i> | 618 | 1094 | 459 | 907 | 212 |
| WPS-2 | Не ідифіковані | 4322 | 5230 | 2113 | 4299 | 584 |
| AD3 | Не ідифіковані | 4519 | 1578 | 640 | 851 | 837 |
| Не ідифіковані | | 17639 | 23038 | 17238 | 12054 | 33826 |
| Інший порядок (менше 1%) | | 5818 | 2660 | 1153 | 1903 | 29053 |
| Crenarchaeota* | <i>NRP-J</i> | 749 | 364 | 343 | 1234 | 24 |

Примітка. * Царство Архей.

вої мікрофлори на рівні виду. Також було отримано базу даних, що відображає загальне біорізноманіття мікрофлори з досліджуваних точок: «Чистогогалівка», «Дитятки», «Рудий ліс» (поза траншеєю / траншея), «Залісся».

Після аналізу результати було згруповано на таксономічних рівнях відділу та порядку (табл. 2) та представлено на діаграмі (рис.).

Проаналізувавши дані з таблиці 2 було виявлено, що 99,7% усіх рідів відносилися до царства Бактерій, а 0,3% належали до царства Архей.

Найбільша кількість послідовностей (відносна кількість > 1%) у зразках як з ПТЛРВ, так із екосистем забруднених радіонуклідами, спостерігалася у представників відділів: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Gemmatimonadetes*, *Chloroflexi* та *Bacteroidetes*. Разом ці вісім груп склали 92,8% всіх послідовностей.

Зі згаданих вище восьми груп, значну частку у мікрофлорі становили представники відділів: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, та *Acidobacteria*. З точок забруднених екосистем: «Дитятки» та «Залісся» – вміст *Actinobacteria* становив 21,81% та 22,08%. У той час, як у ПТЛРВ: «Чистогогалівка», «Рудий ліс» траншея та поза траншеєю – 27,22%, 24,76% та 36,99%, відповідно. Вміст *Proteobacteria* не мав значних коливань, окрім точки «Рудий ліс» (поза траншеєю), що склав 20,83%. У свою чергу, вміст *Acidobacteria* мав розподілення, пропорційно схоже з Відділом *Actinobacteria*. Проте у точці «Рудий ліс» (траншея) вміст *Acidobacteria* був найнижчим серед усіх зразків.

Домінуючими представниками порядку (відносна кількість > 5%) були: *Rhizobiales*, *Rhodospirillales*, *Actinomycetales*, *Solirubrobacterales*, *Acidimicrobiales*, *Acidobacteriales*, *Solibacterales* та *Ellin6513* (рис.).

За результатами аналізу, в зразках ґрунту з забруднених екосистем: «Дитятки» та «Залісся» – вміст *Rhizobiales* становив 6,36% та 10,63% відповідно. Ґрунти з ПТЛРВ: «Чистогогалівка», «Рудий ліс» траншея – 10,61% та 11,67%. Найнижчий вміст був у «Рудому лісі» поза траншеєю та становив 3,46%.

Представники порядку *Rhizobiales* є грамнегативними бактеріями. Ризобії фіксують азот у симбіозі з корінням рослин. При порівнянні вмісту нефіксованого азоту з даними агрохімічних показників (табл. 1) було помічено, що на поверхні точки поза траншеєю «Рудого лісу» фіксація азоту не здійснюється в повному обсязі. Проте найбільший вміст вільного органічного азоту (амонію) спостерігався у точці «Рудий ліс» траншея, незважаючи на те, що вміст представника порядку *Rhizobiales* був найвищим. Це, в свою чергу, показує, що функцію фіксації азоту *Rhizobiales* у повному обсязі не виконували.

Представники порядку *Actinomycetales* та *Solirubrobacterales* становили близько 13% та 5%

Таблиця 3 – Основні показники альфа-різноманіття

| Місце відбору зразків | Chao1 | Shannon | Simpson |
|---------------------------|-------|---------|---------|
| Залісся | 1173 | 6,53 | 0,9965 |
| Дитятки | 1107 | 6,44 | 0,9967 |
| Чистоголівка | 801 | 6,16 | 0,9957 |
| Рудий ліс (поза траншеєю) | 773 | 5,81 | 0,9907 |
| Рудий ліс (траншея) | 1838 | 6,95 | 0,997 |

відповідно. Проте вміст у зразку «Рудий ліс» поза траншеєю склав 28,5% та 2,61%. Відносна кількість *Acidobacteriales* також зростала у зразку «Рудий ліс» поза траншеєю та становив 14,88%.

Разом представники порядків *Rhizobiales*, *Rhodospirillales*, *Actinomycetales*, *Solirubrobacterales* та *Acidobacteriales* склали майже 40% від усіх рідів. Проте у зразках «Рудий ліс» траншея та поза траншеєю їх вміст склав 56,84% та 45,56% відповідно.

На додаток, було помічено, що кількість фіксованого азоту ПТЛРВ мала негативну кореляцію зі збільшенням радіонуклідного забруднення. Взаємозв'язок між вмістом азоту та вмістом радіоактивного ¹³⁷Cs в пробі узгоджується з даними досліджень О.Ю. Паренюк [20].

У свою чергу *Actinobacteria* виконують важливу роль деструктора целюлози та хітину. Також приймають участь у фіксації азоту та формуванні гумусу [21]. Тоді як *Acidobacteria* мають гідролітичні функції і розкладають різні полісахариди, окрім целюлози або хітину [22]. Натомість зі збільшенням їх кількості можна стверджувати про підвищення функцій мінералізації та розкладання складних компонентів екосистеми. Іншими словами редуційного потенціалу.

Альфа-різноманітність – дуже важливий показник для охарактеризування складності мікроценозу. Застосування його у екологічних дослідженнях дає змогу оцінити структуру та складність досліджуваної системи [23,24].

Згідно з отриманими метриками (табл. 3) індекс Сімсона для незабруднених лісових ґрунтів становить 0,85-0,9 [25,26]. Індекс Сімсона для точок «Чистоголівка», «Залісся» та «Дитятки» знаходився в межах 0,9957-0,9967. Найнижчий показник спостерігався у точці «Рудий ліс» (поза траншеєю), тоді як у точці «Рудий ліс» (траншея) – найвищий та становив 0,9907-0,997 відповідно.

Індекс Шеннона з точок «Залісся» та «Дитятки» знаходився в межах 6,53 та 6,44 та відображав середню складність структури мікробіому ґрунту. Точки «Чистоголівка» та «Рудий ліс» (поза траншеєю) мали нижчі показники індексу Шеннона в порівнянні з за-

брудненими екосистемами. Найвищий показник спостерігався у точці «Рудий ліс» (траншея). Подібна картина спостерігалась з індексом Chao1.

Згідно індексу Шеннона та Сімсона, зразком з найбільшим біорізноманіттям виявився ґрунт, відібраний з поверхні траншеї у «Рудому лісі». Що є закономірним, адже екосистема тут все ще нестабільна і знаходиться в процесі формування. Найменший індекс Chao1 і, відповідно, найменші індекси Шеннона та Сімсона мав ґрунт, відібраний також у «Рудому лісі», але на території поза траншеєю.

Отже, можна сказати, що поза межами траншеї було сформовано екосистему і ґрунтова мікрофлора певним чином стабілізувала колообіг та метаболізм органічних речовин. У той час, як ґрунти, відібрані з території траншеї, досі не змогли стабілізувати ці процеси. Отримані нами дані співпадають з висновками французької групи під керівництвом радіобіологині В. Шапон [27,28].

Висновки. При порівнянні двох представлених екотипів було помічено принципову відмінність у кількості представників відділу *Proteobacteria*, у сторону збільшення вмісту *Actinobacteria*, та *Acidobacteria*. Також зразки відібрані з території траншеї «Рудого лісу» мали найбільшу кількість представників ґрунтової мікрофлори на рівні виду. Отже, можна зробити висновок щодо наявності процесів формування екосистеми. А саме, що на них впливають високі поглинуті дози та додаткове живлення, представлене радіонуклідним забрудненням та залишками деревини.

Порівнюючи дані досліджень представленої роботи, можна стверджувати про загальне вирівнювання показників біорізноманіття ПТЛРВ та забруднених екосистем. Також можна припустити відсутність критичного впливу дозового навантаження, або зняття антропогенного навантаження, на мікробне угруповання ґрунтових бактерій. У той самий час, можна стверджувати про стабільність мікробіоценозу.

Перспективи подальших досліджень. Подальше дослідження у галузі аналізу мікробіомів забруднених територій дасть змогу створити низку моделей тривалого впливу твердих радіоактивних матеріалів на мікробіоту, а також впливу мікроорганізмів на фізико-хімічні особливості твердих паливних частинок у шарах ґрунту. Це може бути використано для прогнозування екологічного стану навколишнього середовища та економічних збитків у разі аварій на об'єктах ядерної безпеки.

Література

- Grimm V, Wissel C. Babel, or the ecological stability discussions: An inventory and analysis of terminology and a guide for avoiding confusion [Internet]. 1997;109:323-34. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s004420050090>
- Allison G. The influence of species diversity and stress intensity on community resistance and resilience. *Ecol Monogr* [Internet]. 2004 Jan 1;74(1):117-34. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1890/02-0681>
- Taormina B, Bald J, Want A, Thouzeau G, Lejart M, Desroy N, et al. A review of potential impacts of submarine power cables on the marine environment: Knowledge gaps, recommendations and future directions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Elsevier Ltd. 2018;96:380-91. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.07.026>
- Gosset A, Ferro Y, Durrieu C. Methods for evaluating the pollution impact of urban wet weather discharges on biocenosis: A review. *Water Research*. Elsevier Ltd. 2016;89:330-54. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.020>
- Luo C, Rodriguez-R LM, Johnston ER, Wu L, Cheng L, Xue K, et al. Soil microbial community responses to a decade of warming as revealed by comparative metagenomics. *Appl Environ Microbiol*. 2014 Mar;80(5):1777-86. DOI: 10.1128/AEM.03712-13
- Derzhavna inspektsiia yadernoho rehulivannia Ukrainy [Internet]. Dostupno: <http://www.snrc.gov.ua/nuclear/uk/publish/article/329651> [in Ukrainian].
- Paskevich S. Red forest: description of radioactive dead ecosystem Chernobyl, Pripjat, ChNPP exclusion zone [Internet]. Available from: <http://chornobyl.in.ua/en/red-forest-in-chernobyl-zone.html>

8. Gudkov IM. Radiobiologiya. 2016. 485 s. [in Ukrainian].
9. Richardson AE, Barea JM, McNeill AM, Prigent-Combaret C. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms [Internet]. Plant and Soil. Springer. 2009;321:305-39. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-009-9895-2>
10. Jacoby R, Peukert M, Succurro A, Koprivova A, Kopriva S. The role of soil microorganisms in plant mineral nutrition – current knowledge and future directions. Front Plant Sci [Internet]. 2017 Sep 19;8. Available from: [/pmc/articles/PMC5610682/?report=abstract](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01632)
11. Mendes R, Garbeva P, Raaijmakers JM. The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms [Internet]. FEMS Microbiology Reviews. 2013;37:634-63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23790204/>
12. Gerhard F, redactor. Metody obshhej bakterologii. Moskva: Mir; 1983. 536 s. [in Russian].
13. Kashparov VA, Lundin SM, Homutinina JuV, Novinskij SP, Levchuk SE, Joshhenko VI, i dr. Radioaktivnoe zagrijaznenie 30-km zony ChAES. 1999. [in Russian].
14. Sagova-Mareckova M, Cermak L, Novotna J, Plhachkova K, Forstova J, Kopecky J. Innovative methods for soil DNA purification tested in soils with widely differing characteristics. Appl Environ Microbiol. 2008 May;74(9):2902-7.
15. Algina J, Olejnik S. Conducting power analyses for ANOVA and ANCOVA in between-subjects designs. Eval Health Prof. 2003 Sep;26(3):288-314. Available from: <https://doi.org/10.1177/0163278703255248>
16. The international Chernobyl project technical report assessment of radiological consequences and evaluation of protective measures report by an international advisory committee. Vienna; 1991. Available from: https://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/Pub885e_web.pdf
17. Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, Mcglinn D, et al. Package «vegan» Title Community Ecology Package. 2019.
18. Kashparov V, Levchuk S, Zhurba M, Protsak V, Khomutinin Y, Beresford NA, et al. Spatial datasets of radionuclide contamination in the Ukrainian Chernobyl Exclusion Zone. Earth Syst Sci Data [Internet]. 2018 Feb 26;10(1):339-53. Available from: <https://essd.copernicus.org/articles/10/339/2018/>
19. Kashparov V, Yoschenko V, Levchuk S, Bugai D, Van Meir N, Simonucci C, et al. Radionuclide migration in the experimental polygon of the Red Forest waste site in the Chernobyl zone – Part 1: Characterization of the waste trench, fuel particle transformation processes in soils, biogenic fluxes and effects on biota. Appl Geochemistry. 2012 Jul 1;27(7):1348-58. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2011.11.004>
20. Pareniuk OJ, Moshynets OV, Tytova LV, Levchuk SE. Yakisnyi sklad dominuiuchykh form mikroorganizmiv, vydilynykh z zabrudnynykh radionuklidamy gruntiv, ta ikh zdatnist' do akumulatsii 137Cs. Microbiol J. 2013;75(1):33-40. [in Ukrainian].
21. Bhatti AA, Haq S, Bhat RA. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. Microb Pathog [Internet]. 2017 Oct 1;111:458-67. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0882401017305880>
22. Kielak AM, Barreto CC, Kowalchuk GA, van Veen JA, Kuramae EE. The ecology of Acidobacteria: Moving beyond genes and genomes [Internet]. Frontiers in Microbiology. 2016;7. Available from: [/pmc/articles/PMC4885859/?report=abstract](https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01161)
23. Pielou EC. Ecological Diversity [Internet]. New York: John Wiley and Sons; 1975. 165 p. Available from: <http://www.sciencedirect.com/reference/151613>
24. Pareniuk O, Simutin I, Samofalova D. Vyznachennia osnovnykh metryk riznomanittia mikrobiomiv zabrudnynykh radionuklidamy hruntiv. Biorekursi i Prir [Internet]. 2018 Dec 29;10(5-6):77-81. Dostupno: <https://doi.org/10.31548/bio2018.05.010> [in Ukrainian].
25. Dong X, Lv L, Wang W, Liu Y, Yin C, Xu Q, et al. Differences in Distribution of Potassium-Solubilizing Bacteria in Forest and Plantation Soils in Myanmar. Int J Environ Res Public Health. 2019 Feb;16(5):700. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijerph16050700>
26. Epelde L, Lanzén A, Martín I, Virgel S, Mijangos I, Besga G, et al. The microbiota of technosols resembles that of a nearby forest soil three years after their establishment. Chemosphere. 2019 Apr;220:600-10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.164>
27. Theodorakopoulos N, Février L, Barakat M, Ortet P, Christen R, Piette L, et al. Soil prokaryotic communities in Chernobyl waste disposal trench T22 are modulated by organic matter and radionuclide contamination. FEMS Microbiol Ecol. 2017 Aug;93(8). Available from: <https://doi.org/10.1093/femsec/fix079>
28. Chapon V, Piette L, Vesvres M-H, Coppin F, Marrec C Le, Christen R, et al. Microbial diversity in contaminated soils along the T22 trench of the Chernobyl experimental platform. Appl Geochemistry [Internet]. 2012 Jul;27(7):1375-83. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2011.08.011>

ПОРІВНЯННЯ МІКРОБІОМІВ ДВОХ РІЗНИХ ЕКОТИПІВ ЧОРНОБІЛЬСЬКОЇ ЗОНИ ВІДЧУЖЕННЯ: ПУНКТИВ ТИМЧАСОВОЇ ЛОКАЛІЗАЦІЇ РАДІОАКТИВНИХ ВІДХОДІВ (ПТЛРВ) ТА ЗАБРУДНЕНИХ ЕКОСИСТЕМ

Рубан Ю. В., Шаванова К. Є., Самофалова Д. О., Ніконов С. Б., Паренюк О. Ю.

Резюме. Пункти тимчасової локалізації радіоактивних відходів (ПТЛРВ) – території прилегли до Чорнобильської АЕС, на яких в ході першочергових заходів з ліквідації аварії створювалися траншеї та бурти для локалізації РАВ. Метою представленої роботи було порівняти структуру мікробної спільноти на ПТЛРВ та забруднених радіонуклідами територій.

Найбільша кількість послідовностей (відносна кількість > 1%) у зразках як з ПТЛРВ, так із екосистем забруднених радіонуклідами, спостерігалась у представників відділів: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Gemmatimonadetes*, *Chloroflexi* та *Bacteroidetes*.

Домінуючими представниками порядку (відносна кількість > 5%) були: *Rhizobiales*, *Rhodospirillales*, *Actinomycetales*, *Solirubrobacterales*, *Acidimicrobiales Acidobacteriales*, *Solibacterales* та *Ellin6513*.

Згідно індексу Шеннона та Сімпсона, зразком з найбільшим біорізноманіттям виявився ґрунт, відібраний з поверхні траншеї у «Рудому лісі». Найменший індекс Чао1 і, відповідно, найменші індекси Шеннона та Сімпсона мав ґрунт, відібраний також у «Рудому лісі», але на території поза траншеєю.

При порівнянні двох представлених екотипів було помічено принципову відмінність у кількості представників Відділу *Proteobacteria*, у сторону *Actinobacteria*, та *Acidobacteria*. Також зразки відібрані з території траншеї «Рудого лісу» мали найбільшу кількість представників ґрунтової мікрофлори на рівні Виду. Отже, можна зробити висновок щодо наявності процесів формування екосистеми. А саме, що на них впливають високі поглинуті дози та додаткове живлення, представлене радіонуклідним забруднення та залишками деревини.

Ключові слова: мікробіом, радіонукліди, зона відчуження Чорнобильської АЕС, мікроорганізми.

СРАВНЕНИЕ МИКРОБИОМОВ ДВУХ РАЗНЫХ ЭКОТИПОВ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ: ПУНКТОВ ВРЕМЕННОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ РАДИОАКТИВНЫХ ОТХОДОВ (ПВЛРО) И ЗАГРЯЗНЕННЫХ ЭКОСИСТЕМ

Рубан Ю. В., Шаванова К. Е., Самофалова Д. О., Никонов С. Б., Паренюк О. Ю.

Резюме. Пункты временной локализации радиоактивных отходов (ПВЛРО) – территории, прилегающие к Чернобыльской АЭС, на которых в ходе первоочередных мер по ликвидации аварии создавались траншеи и бурты для локализации радиоактивных отходов. Целью представленной работы было сравнить структуру микробных сообществ на ПВЛРО и загрязненных радионуклидами территорий.

Наибольшее количество последовательностей (относительное количество > 1%) в образцах как с ПВЛРО, так и с экосистем загрязненных радионуклидами, наблюдалась у представителей отделов: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Gemmatimonadetes*, *Chloroflexi* и *Bacteroidetes*.

Доминирующими представителями порядка (относительное количество > 5%) были: *Rhizobiales*, *Rhodospirillales*, *Actinomycetales*, *Solirubrobacterales*, *Acidimicrobiales* *Acidobacteriales*, *Solibacterales* и *Ellin6513*.

Согласно индексу Шеннона и Симпсона, образцом с наибольшим биоразнообразием оказался почва, отобранный с поверхности траншеи в «Рыжем лесу». Наименьший индекс Chao1 и, соответственно, самые индексы Шеннона и Симпсона имел почва, отобранный также в «Рыжем лесу», но на территории вне траншеи.

При сравнении двух представленных экотипов было замечено принципиальное отличие в количестве представителей отдела *Proteobacteria*, в сторону *Actinobacteria*, и *Acidobacteria*. Также образцы отобраны из территории траншеи «Рыжего леса» имели большое количество представителей почвенной микрофлоры на уровне вида. Так что можно сделать вывод, о наличии процессов формирования экосистемы. В частности, на них влияют высокие поглощенные дозы и дополнительное питание, представленное радионуклидным загрязнением и остатками древесины.

Ключевые слова: микробиом, радионуклиды, зона отчуждения Чернобыльской АЭС, микроорганизмы.

COMPARISON OF MICROBIOMES OF TWO DIFFERENT ECOTYPES OF THE CHORNOBYL EXCLUSION ZONE: POINTS OF TEMPORARY LOCALIZATION OF RADIOACTIVE WASTE (PTLRW) AND CONTAMINATED ECOSYSTEMS

Ruban Y. V., Shavanova K. E., Samofalova D. O., Nikonov S. B., Pareniuk O. Y.

Abstract. Points of temporary localization of radioactive waste (PTLRW) are areas adjacent to the Chornobyl NPP where trenches and burrows for radioactive waste localization were created during the priority measures to eliminate the accident. The aim of the presented work was to compare the structure of the microbial community on PTLRW and areas contaminated with radionuclides.

The largest number of sequences (relative abundance > 1%) in samples from both PTLRV and radionuclide-contaminated ecosystems was observed of the Phylum: *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, *Gemmatimonadetes*, *Chloroflexi* and *Bacteroidetes*.

The dominant Order (relative abundance > 5%) were: *Rhizobiales*, *Rhodospirillales*, *Actinomycetales*, *Solirubrobacterales*, *Acidimicrobiales* *Acidobacteriales*, *Solibacterales* and *Ellin6513*.

According to Shannon and Simpson, the soil with the highest biodiversity was in the soil taken from the surface of the trench in the «Red Forest». The lowest Chao1 index Shannon and Simpson Index had soil from outside of the trench in the «Red Forest».

Comparing the two presented ecotypes, a significant difference was observed in the amount of the *Proteobacteria* Phylum, towards *Actinobacteria*, and *Acidobacteria*. Also, samples from the territory of the trench “Red Forest” had the largest number of identified Species. Therefore, we can conclude that there are processes of ecosystem formation. Namely, they are affected by high absorbed doses and additional nutrition, represented by radionuclide contamination and wood residues.

Key words: microbiome, radionuclides, Chornobyl Exclusion Zone, microorganisms.

Рецензент – проф. Катрушов О. В.
Стаття надійшла 15.08.2020 року