

ДЕСТРУКЦІЯ РЕШТОК ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН КАРТОПЛІ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) ЗА ВПЛИВУ ҐРУНТОВОГО МІКРОБІОМУ

Н.В. Карачинська, А.І. Парфенюк, А.М. Ліщук

Інститут агроєкології і природокористування НААН (м. Київ, Україна)

e-mail: karachinskan051177@gmail.com; ORCID: 0000-0002-6571-8430

e-mail: verespar@ukr.net; ORCID: 0000-0003-0169-4262

e-mail: lishchuk.alla.n@gmail.com; ORCID: 0000-0002-8339-9365

Науковою спільнотою не одне десятиріччя розглядаються різні гіпотези стосовно можливого впливу ГМ-рослин на нецільові мікроорганізми ґрунту, виділяючи прямий та опосередкований вплив. Пряму дію зазвичай легше виявити, адже трансгенні білки, що характеризуються діапазоном елімінації проти певних видів комах, патогенних грибів і бактерій, можуть впливати на нецільові корисні симбіонти та мікробні угруповання ґрунту, які беруть участь у перетворенні органічних речовин. Опосередкований вплив важко оцінити, оскільки багато різних чинників можуть подіяти на склад кореневих ексудатів та метаболічну активність рослин. Зміни в метаболічних шляхах можуть впливати на склад ґрунтових ексудатів і на експресію генів у рослинних тканинах. Одночасно ці зміни можуть позначитись на розкладанні органічних речовин та протіканні мікробіологічних процесів у ґрунті. На основі експериментальних досліджень проведено оцінку швидкості деструкції рослинних решток і деградації ДНК у трансгенних рослинах картоплі в дерново-середньопідзолистому ґрунті картопляної сівозміни. За результатами досліджень встановлено істотну роль мікробіому дерново-середньопідзолистого ґрунту картопляної сівозміни у руйнуванні решток трансгенних рослин картоплі та деградації ДНК. Деструкція решток трансгенних рослин за впливу мікрофлори дерново-середньопідзолистого ґрунту картопляної сівозміни становила 30 діб із втратою сирової маси $87,14 \pm 1,11\%$. Деградація ДНК у зазначений термін сягає 88% (186 нг/мг) від початкової кількості тотальної ДНК, а деградація генів пртII та 35S — близько 90% від початкової їх кількості у продуктах полімеразно-ланцюгової реакції. Виявлено, що близько 90% генів пртII та 35S у ДНК залишків трансгенних рослин картоплі під впливом мікробіому дерново-середньопідзолистого ґрунту відбувається на 30-ту добу.

Ключові слова: генетично модифіковані рослини, целюлозоруйнівна активність ґрунту, дерново-середньопідзолистий ґрунт, ген пртII, ген 35S, деградація ДНК, ґрунтова мікробіота.

ВСТУП

Генетично модифіковані рослини, або ГМ-культури, входять до ланцюгів живлення людини і сільськогосподарських тварин у багатьох країнах світу. За даними Міжнародної служби надбання агробіотехнологічних застосувань (ISAAA), у світі у 2019 р. ГМ-культури вирощували на площі 190,4 млн га в 29 країнах із часткою 14% усієї світової ріллі [1]. Трансгенні рослини, присутні на аграрному ринку України, продовжують збільшувати свої посівні площі. Виявлено значну кількість ГМ рослин у зразках ріпаку, сої та кормів для

продуктивних і непродуктивних тварин. Зауважено тенденцію до зростання кількості трансгенних рослин у досліджуваних зразках ріпаку і сої. За даними Kuchnir G.V. та ін. (2022), серед відібраних зразків ріпаку були позитивними на ГМ у 2019 р. 6,5%, у 2020 р. — 7,4, а у 2021 р. — 14,3%. Щодо сої, у 2019 р. 6,7% зразків були позитивними на ГМ, у 2020 р. — 16,7, а у 2021 р. — 18,2% [2].

Використання таких рослин в аграрних технологіях дають економічні переваги для виробників сільськогосподарської сировини. Однак вирощування трансгенних рослин у відкритих екосистемах може

призводити до вивільнення генетичних конструкцій у навколишнє природне середовище, що може створювати ризики для біорізноманіття та екологічної безпеки.

Існують дані і про певний негативний вплив трансгенних рослин на біоту ґрунту [3]. Ґрунтова мікробіота відіграє важливу роль у процесах деструкції решток трансгенних рослин та їхньої ДНК. Мікроорганізми, такі як бактерії та гриби, є ключовими учасниками циклу речовин у природному середовищі і вони активно беруть участь у розкладанні органічних матеріалів, включаючи рештки рослин. Це означає, що мікроорганізми можуть сприяти деградації ДНК та генетичних конструкцій, які можуть потрапити в ґрунт із рештками трансгенних рослин. Однак існує потреба у дослідженні цих процесів для повного розуміння і їхнього потенційного впливу на екосистеми. Тому під час розробки та використання генетично модифікованих рослин дуже важливо проводити дослідження їхнього впливу на агроценози та ґрунтову мікробну спільноту з метою гарантування безпеки та збереження екологічної рівноваги.

Метою наших досліджень була оцінка рівнів можливої деградації ДНК у рештках трансгенних рослин картоплі (*Solanum tuberosum* L.) за впливу целюлозоруйнівної мікрофлори дерново-середньопідзолистого ґрунту картопляної сівозміни в умовах Полісся України.

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Генетично модифіковані рослини не виникли в результаті еволюційних процесів і не є частиною існуючого біорізноманіття. Їхнє впровадження в середовище, а також масове вирощування та використання продуктів, отриманих на їх основі, можуть становити істотну загрозу для людей та довкілля [4]. Мікроорганізми є домінуючими у ґрунті, складаючи понад 80% загальної біомаси (без урахування коренів) і значною мірою визначають функціонування наземних екосистем. Науковою спільнотою не одне десятиріччя розглядаються

різні гіпотези щодо можливого впливу ГМ-культур (ГМ-рослин) на нецільові мікроорганізми ґрунту, виділяючи прямий та опосередкований вплив [5].

За даними групи авторів [6], у ґрунті може відбуватися обмін генетичним матеріалом між *A. tumefaciens* і *P. fluorescens*, що дає змогу припустити можливість горизонтального переносу генів, який проходить у природних умовах *in vivo* за використання механізмів природної трансформації. За вивчення особливостей вирощування трансгенних за хлоропластними генами (транспластомних) рослин тютюну, було виявлено захоплення фрагментів генетичних конструкцій бактеріальними культурами *R. solanacearum* і *Acinetobacter* sp. BD413 [7].

Однією з умов природної трансформації ґрунтової біоти є присутність у ґрунті нативної рекомбінантної ДНК. Від її стабільності залежить здатність до обміну генетичним матеріалом між генетично модифікованими рослинами і ґрунтовими мікроорганізмами. Така ДНК, як джерело для трансформації, може надходити з відмерлих клітин або виділятися трансгенними рослинами в навколишнє природне середовище у вигляді ексудатів. Рештки трансгенних рослин, потрапляючи в ґрунт, також підлягають процесам деструкції. За даними низки авторів [8], ДНК у рослинних рештках швидко деградує.

Однак важливо зауважити, що вплив ГМ-культур на мікроорганізми ґрунту є складним і може залежати від конкретних видів ГМ-рослин, генетичних модифікацій, області вирощування, типу ґрунту і багатьох інших чинників. Дослідження в цій області продовжуються для кращого розуміння можливих впливів та визначення заходів для забезпечення екологічної безпеки за вирощування ГМ-культур.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Об'єктом досліджень були рештки трансгенних рослин картоплі сорту Радич, отримані нами в результаті трансформації *A. tumefaciens p35SGUSint* [9]. Зразки

дерново-середньопідзолистого ґрунту відбирали у картопляній сівозміні по попереднику пшениця озима на дослідному полі Інституту картоплярства НААН. Для визначення целюлозоруйнівної активності ґрунту використовували метод Крістенсена [10] за показниками зменшення маси субстрату целюлози фільтрувальних дисків.

З метою визначення деструкції решток трансгенних рослин картоплі і деградації їх ДНК за впливу мікрофлори ґрунту, метод Крістенсена модифікували. Для цього целюлозу фільтрувальних дисків замінювали субстратом із рослинних решток. Інтенсивність деструкції рослинних решток визначали за втратою загальної вегетативної маси рослин картоплі в динаміці. Рівень деградації ДНК із рослинних решток встановлювали шляхом її екстракції та наступного аналізу на спектрофотометрі. Деградацію генів *nptII* і *35S* у ДНК рослинних решток визначали за використання полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та спектрофотометрії. Деструкцію целюлози дисків фільтрувального паперу і решток трансгенних рослин картоплі та деградацію ДНК спостерігали у динаміці через 1, 3, 7, 10, 21, 30 діб.

Виділення ДНК із решток трансгенних рослин картоплі здійснювали, використовуючи набори реактивів для екстракції ДНК (Genomic DNA Purification Kit, Ферментас, Латвія). Концентрацію ДНК і синтезованих продуктів ПЛР генів *nptII* та *35S* вимірювали на спектрофотометрі ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc., США).

Наявність послідовностей відповідних генів у ДНК із рослинних решток картоплі виявляли шляхом полімеразної ланцюгової реакції на послідовності генів *nptII* [11] і *35S* [12] з розмірами продуктів, відповідно, 700 п.н. (*nptII*) та 189 п.н. (*35S*).

Дослідження здійснювали у трикратному повторенні. У контролі використовували стерильний ґрунт.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами досліджень доведено, що на 10-ту добу целюлозоруйнівна актив-

ність дерново-середньопідзолистого ґрунту становила близько 10% (табл.).

Целюлозоруйнівна активність дерново-середньопідзолистого ґрунту

Термін культивування, діб	Целюлозоруйнівна активність, % зменшення маси целюлози	
	контроль	дослід
10 доба	0	9,67±1,43
20 доба	0	14,33±1,43
30 доба	9,30±1,43	52,00±0,80

З часом активність зростала і вже на 20-ту добу вона перевищувала 14%. В той самий час у контрольному варіанті цей показник дорівнював нулю. Слід зазначити, що після 20 доби почали з'являтися ознаки целюлозоруйнівної активності стерильного ґрунту в контрольному варіанті і на 30-ту добу під її впливом деструкція целюлози фільтрувальних дисків сягала 9,3%. Водночас целюлозоруйнівна активність нестерильного ґрунту на 30-ту добу становила 52%, що майже на 42% перевищувало контроль (див. табл.).

Отже, можна зробити висновок, що дерново-середньопідзолистий ґрунт після пшениці озимої, як попередника картоплі, характеризується високою целюлозолітичною активністю. Отримані дані підтверджуються результатами досліджень проведених в Інституті агроєкології і природокористування НААН [13], за якими целюлозолітична активність дерново-середньопідзолистого сушіщеного ґрунту коливається в межах 21–40% і залежить від різних систем удобрення та еколого-кліматичних чинників. Вчені стверджують, що інтенсивність розкладу біополімеру целюлози залежить від рівнів використання мінеральних та органічних добрив і коливається для дерново-середньопідзолистого ґрунту в межах від 30% (без використання добрив) до 53% (з використанням органічно-мінеральної системи удобрення).

Отже, целюлозоруйнівна активність дерново-середньопідзолистого ґрунту за органічно-мінеральної системи удобрення в

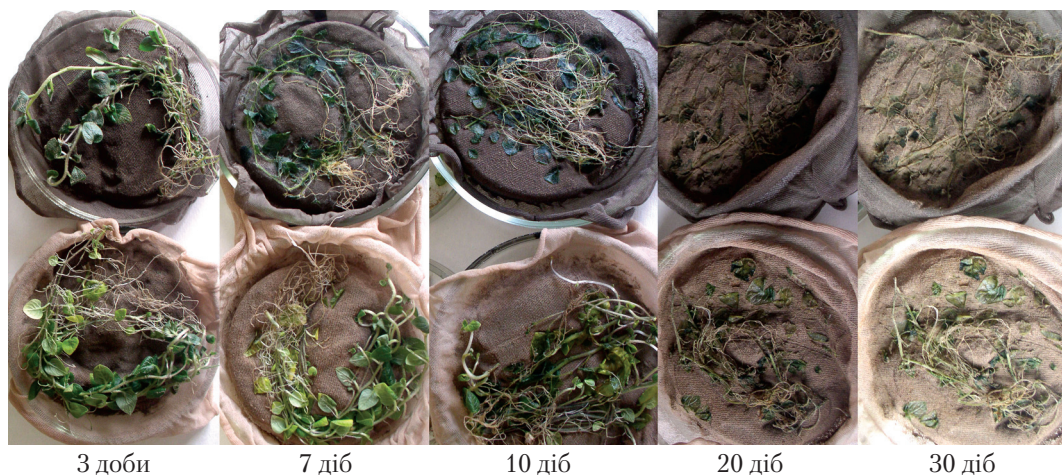


Рис. 1. Деструкція решток трансгенних рослин картоплі за впливу мікробіому дерново-середньопідзолистого ґрунту

Примітка: нижній ряд — контроль, верхній ряд — дослідний варіант.

картопляній сівозміні уже на 30-ту добу сягає 52%.

Відомо, що спеціалізовані види целюлозних бактерій, як аеробних, так і анаеробних, розвиваються там, де є целюлоза. Вміст целюлози в ґрунтах коливається від 0,5 до 5,0%. Слід зазначити, що єдиний показник кількості целюлози в ґрунті не може бути вирішальним, оскільки треба брати до уваги рослинні рештки, які, крім целюлози, містять цілу низку інших хімічних сполук, у т. ч. і біологічно активних [14].

Деструкцію тканин решток трансгенних рослин картоплі під шаром дерново-середньопідзолистого ґрунту спостерігали на 7-му добу у вигляді потемніння і втрати тургору тканин, а в контрольних зразках — на 10-ту добу (рис. 1).

З часом деструкція решток трансгенних рослин різко зростала і вже на 10-ту добу вона перевищувала контроль на $23,9 \pm 2,35\%$ (рис. 2). Слід зазначити, що на 20-ту добу втрата маси решток трансгенних рослин у контрольному варіанті становила $75,7 \pm 2,72\%$. Водночас у досліді вона сягала $85,3 \pm 2,44\%$ від початкової маси. На 30-ту добу втрата маси рослин як у контрольному, так і дослідному варіантах майже зрівнялась і становили $80,2 \pm 1,71\%$ та $87,1 \pm 1,11\%$ відповідно.

Рештки трансгенних рослин під шаром дерново-середньопідзолистого ґрунту починають розкладатися на 7-му добу. Різка втрата маси рослинних решток на 10-ту добу (у контролі і в досліді) свідчить про дію екзогенних чинників (вологості, рівнів аерації, температури ґрунту) й ендогенних чинників (ферментів та інших біологічно активних речовин), які зумовили деструкцію клітинних стінок і втрату води клітинами. На 20- і 30-ту добу спостерігали деструкцію тканин, як у контролі, так і в досліді, що свідчить про продовження процесу відмирання тканин і їхньої подальшої деструкції ґрунтовими мікроорганізмами.

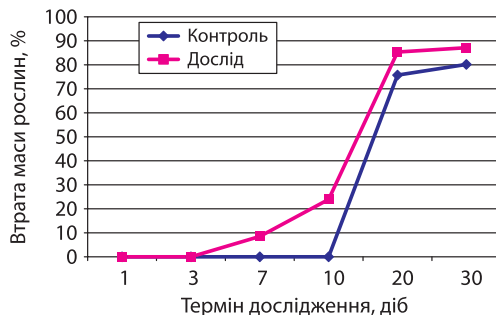


Рис. 2. Динаміка деструкції решток трансгенних рослин картоплі за впливу мікробіому дерново-середньопідзолистого ґрунту

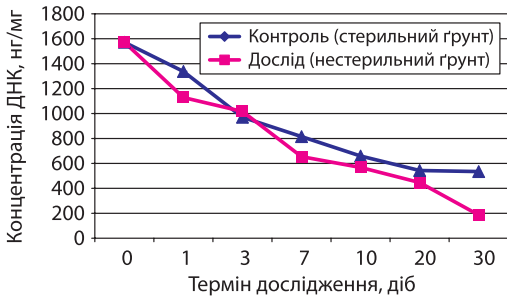


Рис. 3. Деградація ДНК решток трансгенних рослин за впливу мікробіому дерново-середньо підзолистого ґрунту

Отже, деструкція решток трансгенних рослин картоплі сорту Радич під шаром дерново-середньопідзолистого ґрунту органо-мінеральної системи удобрення картопляної сівозміни уже на 30-ту добу становила $87,14 \pm 1,11\%$.

Як свідчать дані літератури, рештки трансгенних рослин, потрапляючи в ґрунт, підлягають процесам деструкції. За деструкції рослинних решток, ДНК потрапляє під дію бактеріальних ферментів (целюлази, протеїнази, лігнінази), що беруть участь у руйнуванні багатьох полімерних молекул рослин, а також у результаті старіння рослин у їхніх тканинах підвищується нуклеазна активність, яка призводить до розкладання ДНК [15].

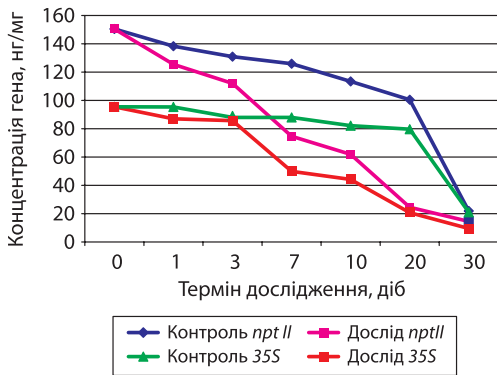


Рис. 4. Деградація генів *nptII*, *35S* на ДНК решток трансгенних рослин картоплі за впливу целюлозоруйнівних мікроорганізмів дерново-середньопідзолистого ґрунту

За результатами досліджень встановлено, що через 1 добу перебування решток трансгенних рослин картоплі під шаром дерново-середньопідзолистого ґрунту концентрація тотальної ДНК зменшується майже на 28% (1128 ng/mg). Через 10 діб культивування втрата ДНК становила уже 64% (569 ng/mg), а на 30-ту добу вона досягла рівня 88% (186 ng/mg) від початкової кількості тотальної ДНК (рис. 3).

За інкубації решток трансгенних рослин у контрольному варіанті через 1 добу культивування деградація ДНК становила 15% (1338 ng/mg), через 10 діб – 58% (659 ng/mg), а через 30 діб – 66% (535 ng/mg) від початкової кількості рослинної ДНК. Це свідчить про присутність деградації ДНК решток трансгенних рослин картоплі навіть у стерильному ґрунті (див. рис. 3), але тут зазначені процеси відбуваються повільніше.

Отже, за результатами проведених досліджень можна допустити, що на швидкість деградації ДНК, яка знаходиться в рослинних рештках, діють як ендогенні ферментативні системи рослини, так і екзогенні, тобто, ґрунтовий мікробіом та фізико-хімічні чинники ґрунту.

За цих обставин було виявлено деградацію генів *nptII* та *35S* уже через 1 добу перебування решток трансгенних рослин картоплі під шаром дерново-середньопідзолистого ґрунту (рис. 4). Деградація послідовностей *nptII* гена відбувалась швидше, ніж деградація *35S* гена. Ці процеси спостерігали у всіх варіантах. Водночас деградація цих генів у рештках трансгенних рослин за впливу мікрофлори ґрунту відбувалась уже на 7-му добу. В цей період *nptII* ген деградував на 50,4% (74,7 ng/mg), а *35S* ген на 47,7% (49,9 ng/mg). Слід зазначити, що у контрольному варіанті деградацію спостерігали лише через 21-шу добу. Водночас ген *nptII* деградував на 33,2% (100,5 ng/mg), а ген *35S* – на 16,5% (39,7 ng/mg). На 30-ту добу деградація трансгенів по варіантах сягала 90% (див. рис. 4).

Отримані результати свідчать про важливу роль ґрунтового мікробіому у процесі деградації трансгенів рослинних решток

картоплі. Концентрація тотальної ДНК і генів *nptII* та *35S* значно зменшуються уже на 20-ту добу. Через 30 діб перебування решток трансгенних рослин картоплі в дерново-середньопідзолистому ґрунті деградація генів сягає 90%.

ВИСНОВКИ

За результатами досліджень встановлено істотну роль мікробіому дерново-середньопідзолистого ґрунту картопляної сівозміни у руйнуванні решток трансгенних рослин картоплі та деградації ДНК. Дос-

лідження засвідчили, що целюлозолітична активність дерново-середньопідзолистого ґрунту картопляної сівозміни сягає $52,00 \pm 0,80$. Деструкція решток трансгенних рослин за впливу мікробіому дерново-середньопідзолистого ґрунту картопляної сівозміни відбувається за 30 діб із втратою сирової маси близько $87,14 \pm 1,11\%$. Деградація ДНК у зазначений період може сягати близько 88% (186 нг/мг) від початкової кількості тотальної ДНК, а деградація генів *nptII* та *35S* — близько 90% від початкової кількості у продуктах ПЛР.

ЛІТЕРАТУРА

1. Brief 55: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2019. URL: <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/>.
2. Kuchnir G.V., Levitskyj T.R., Ryvak G.P. et al. The tendency of transgenic plants spread in 2019–2021. *Scientific and Technical Bulletin of State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*. 2022. Vol. 23(1). P. 71–75. DOI: <https://doi.org/10.36359/scivp.2022-23-1.10>.
3. Wei W. and Stewart Jr C.N. Biosafety and Ecological Assessment of Genetically Engineered and Edited Crops. *Plants*. 2023. Vol. 12(13). 2551. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12132551>.
4. Bauer-Panskus A., Miyazaki J. and Kawall K. Risk assessment of genetically engineered plants that can persist and propagate in the environment. *Environ. Sci. Eur.* 2020. Vol. 32(1). P. 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00301-0>.
5. Lebedev V., Lebedeva T., Tikhonova E. and Shestibratov K. Assessing impacts of transgenic plants on soil using functional indicators: twenty years of research and perspectives. *Plants*. 2022. Vol. 11(18). P. 2439. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11182439>.
6. Arnold B.J., Huang I.T. and Hanage W.P. Horizontal gene transfer and adaptive evolution in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*. 2022. Vol. 20 (4). P. 206–218. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00650-4>.
7. Kay E., Vogel T.M., Bertolla F. et al. In situ transfer of antibiotic resistance genes from transgenic (transplastomic) tobacco plants to bacteria. *Applied and environmental microbiology*. 2002. Vol. 68 (7). P. 3345–3351. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.7.3345-3351.2002>.
8. Barnes M.A. and Turner C.R. The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conservation genetics*. 2016. Vol. 17 (1). P. 1–17. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10592-015-0775-4>.
9. Vancanneyt G., Schmidt R., O'Connor-Sanchez A. et al. Construction of an intron-containing marker gene: Splicing of the intron in transgenic plants and its use in monitoring early events in Agrobacterium-mediated plant transformation. *Molec. Gen. Genet.* 1990. Vol. 220. P. 245–250. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00260489>.
10. Звягинцев Д.Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии. М.: Изд-во Моск. ун-та. 1991. 303 с.
11. Miguel C. Transgenic almond (*Prunus dulcis* Mill.) plant obtained by Agrobacterium-mediated transformation of leaf explants. *Plant cell Reports*. 1999. Vol. 18. P. 387–393. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002990050591>.
12. Стороженко С.В. Анализ трансгенных растений с помощью полимеразной цепной реакции: пара универсальных праймеров для амплификации последовательности 35S промотора. *Биополимеры и клетка*. 1994. Т. 10. № 1. С. 72–75.
13. Дем'янюк О.С., Шерстобоева О.В. Потенційна целюлозолітична активність ґрунтів різних агро-еко систем України. *Агро-екологічний журнал*. 2005. № 5. С. 56–59.
14. Имшенецкий А.А. Микробиология целлюлозы. 1953. М.: Издательство академии наук СССР. 439 с.
15. Shahbaz M., Kuzyakov Y., Sanaullah M. et al. Microbial decomposition of soil organic matter is mediated by quality and quantity of crop residues: mechanisms and thresholds. *Biology and Fertility of Soils*. 2017. Vol. 53. P. 287–301. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-016-1174-9>.

REFERENCES

1. Brief 55: Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops. (2019). URL: <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/55/> [in English].
2. Kuchnir, G.V., Levitskyj, T.R., Ryvak, G.P. et al. (2022). The tendency of transgenic plants spread in 2019–2021. *Scientific and Technical Bulletin of State*

- Scientific Research Control Institute of Veterinary Medical Products and Fodder Additives and Institute of Animal Biology*, 23 (1), 71–75. DOI: <https://doi.org/10.36359/scivp.2022-23-1.10> [in English].
3. Wei, W. & Stewart Jr, C.N. (2023). Biosafety and Ecological Assessment of Genetically Engineered and Edited Crops. *Plants*, 12 (13), 2551. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants12132551> [in English].
 4. Bauer-Pankus, A., Miyazaki, J., Kawall, K. & Then, C. (2020). Risk assessment of genetically engineered plants that can persist and propagate in the environment. *Environmental Sciences Europe*, 32 (1), 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12302-020-00301-0> [in English].
 5. Lebedev, V., Lebedeva, T., Tikhonova, E. & Shestibratov, K. (2022). Assessing impacts of transgenic plants on soil using functional indicators: twenty years of research and perspectives. *Plants*, 11 (18), 2439. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11182439> [in English].
 6. Arnold, B.J., Huang, I.T. & Hanage, W. P. (2022). Horizontal gene transfer and adaptive evolution in bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 20 (4), 206–218. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00650-4> [in English].
 7. Kay, E., Vogel, T.M., Bertolla, F. et al. (2002). In situ transfer of antibiotic resistance genes from transgenic (transplastomic) tobacco plants to bacteria. *Applied and environmental microbiology*, 68 (7), 3345–3351. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.68.7.3345-3351.2002> [in English].
 8. Barnes, M.A. & Turner, C.R. (2016). The ecology of environmental DNA and implications for conservation genetics. *Conservation genetics*, 17 (1), 1–17. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10592-015-0775-4> [in English].
 9. Vancanneyt, G., Schmidt, R., O'Connor-Sanchez, A., Willmitzer, L. & Rocha-Sosa, M. (1990). Construction of an intron-containing marker gene: splicing of the intron in transgenic plants and its use in monitoring early events in Agrobacterium-mediated plant transformation. *Molecular and General Genetics MGG*, 220, 245–250. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00260489> [in English].
 10. Zvyagintsev, D.G. (1991). *Metodyi pochvennoy mikrobiologii i biohimii [Methods of soil microbiology and biochemistry]*. Moscow [in Russian].
 11. Miguel, C.M. & Oliveira, M.M. (1999). Transgenic almond (*Prunus dulcis* Mill.) plants obtained by Agrobacterium-mediated transformation of leaf explants. *Plant Cell Reports*, 18, 387–393. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002990050591> [in English].
 12. Storozhenko, S.V. (1994). Analiz transgenyynyh rasteniy s pomoschyu polimeraznoy tsepnoy reaktsii: para universalnyh praymerov dlya amplifikatsii posledovatelnosti 35S promotora [Analysis of transgenic plants using the polymerase chain reaction: a pair of universal primers for amplification of the 35S promoter sequence]. *Biopolimery i kletka — Biopolymers and the cell*, 10, 1, 72–75 [in Russian].
 13. Demyaniuk, O.S. & Sherstoboyeva, O.V. (2005). Potentsiina tseliulozolytichna aktyvnist gruntiv riznykh ahroekosystem Ukrainy [Potential cellulolytic activity of soils of different agroecosystems of Ukraine]. *Ahroekologichnyi zhurnal — Agroecological journal*, 5, 56–59 [in Ukrainian].
 14. Imshenetskiy, A.A. (1953). *Mikrobiologiya tsellyulozy [Microbiology of cellulose]*. Moscow [in Russian].
 15. Shahbaz, M., Kuzyakov, Y., Sanullah, M. et al. (2017). Microbial decomposition of soil organic matter is mediated by quality and quantity of crop residues: mechanisms and thresholds. *Biology and Fertility of Soils*, 53, 287–301. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-016-1174-9> [in English].

Стаття надійшла до редакції журналу 18.08.2023