

## ІНТЕГРОВАНІЙ ПІДХІД ДО ОЦІНКИ СТРУКТУРИ ТА ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МІКРОБІОМУ ҐРУНТУ

А.А. Бунас, О.В. Шерстобоева, К.І. Бондаренко, М.В. Дворецький

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

*e-mail: bio-206316@ukr.net; ORCID: 0000-0003-4806-7004*

*e-mail: ovsher@ukr.net; ORCID: 0000-0001-8239-0847*

*e-mail: kirill.bondarenko666@gmail.com; ORCID: 0009-0002-3429-0897*

*e-mail: dvoreckij7@gmail.com; ORCID: 0009-0002-9324-7696*

*Окреслено глобальний контекст, у якому мікробіом розглядають як критичний біо-індикатор «здоров'я ґрунту» та продовольчої безпеки, що відображено в міжнародних екологічних стратегіях та нормативних актах. Проаналізовано масштаби застосування пестицидів у світі та Україні, показано їхній негативний вплив на структуру мікробних угруповань, метаболічну активність та стабільність екосистем. Встановлено, що хімічні засоби захисту здатні порушувати функціональні мережі мікробіоти, формувати резистентні популяції, знижувати біорізноманіття та впливати на цикли C і N, що посилює екологічні ризики. Показано, що альтернативою для відновлення та цілеспрямованого корегування мікробіомів агроценозів є біологічний захист, який передбачає використання PGPR бактерій, мікроміцетів, та вірусних агентів. Однією з переваг біопрепаратів є їх здатність активувати мікробні мережі, заповнюючи вільні ніші й відповідно забезпечуючи стійкість та резильєнтність ґрунтового середовища. Крім того, відновлення мікробіому не є автоматичним процесом, тому потребує системного контролю й науково обґрунтованого моніторингу. Метою роботи було узагальнення сучасних наукових підходів до оцінки структури та функціональної активності ґрунтових мікробіомів на основі культуральних, молекулярних, метагеномних і біохімічних методів з урахуванням тенденцій біологічного контролю, зниження пестицидного навантаження та відновлення ґрунтової біоти. Сформовано цілісне бачення переваг і недоліків культуральних, молекулярних і метагеномних методів кількісної та структурної оцінки мікробіомів, аргументовано доцільність використання інтегрованих індексів «здоров'я ґрунту» та екологічного моделювання для прогнозування довгострокової стійкості агроєкосистем. Наведені дані огляду формують методологічну основу для системного моніторингу та науково обґрунтованого управління мікробіомами в умовах сталого землеробства.*

**Ключові слова:** біологічний захист, біопрепарати, health soil, qPCR, PLFA, емісія CO<sub>2</sub>, мікробна біомаса, ґрунт.

### ВСТУП

Мікробіом — це сукупність мікроорганізмів, які живуть у певному середовищі з мікробними структурами та речовинами, які вони продукують. Мікробіоми, котрі специфічні за своїм складом та функціями можна зустріти в організмі людини, тварин, рослин, ґрунтах, океанах та інших середовищах. Ці поєднання мікроорганізмів у кожному середовищі є унікальними.

Мікробіом ґрунту складається з ґрунтової мікробіоти, а також мікробних структур, генетичних елементів та реліктової ДНК.

Всі мікроорганізми ґрунту зазвичай поділяють на чотири основні групи (бактерії, гриби, археї та протисти), саме вони становлять приблизно 80% біомаси Планети. Чисельність прокариот (бактерій і архей) оцінюють щонайменше  $4\text{--}6 \cdot 10^{30}$  КУО/ґ ґрунту [1]. Процес формування родючості ґрунту найбільшою мірою залежить від життєдіяльності мікроорганізмів, які є стародавніми ґрунтоутворювачами, що діяли задовго до появи вищих рослин і тварин. Відомо, що міжмікроорганізмні взаємодії з'явилися щонайменше 3,5 млрд років тому, а рослинно-мікроорганізмні виникли не більше як 450 млн років тому [1; 2].

Останнім часом на міжнародних конференціях та симпозиумах у контексті поняття «health soil» дедалі частіше наголошують на важливості підтримки і формування біорізноманіття ґрунту, а саме мікроорганізмів. Це пов'язано не лише з тим, що ґрунтові мікроорганізми визначають основні показники «health soil», продовольчої безпеки та глобальних змін клімату, а безпосередньо впливають на формування імунітету і здоров'я людей.

Інтенсивне застосування хімічних засобів захисту в рослинництві змінює структуру та функції мікробіоценозів, що має як негайні (наприклад, зниження активності нітрифікації), так і відстрочені наслідки (зміни стабільності біоценозів). Відповідно до екологічних стратегій (*Farm to Fork Strategy*, *EU Soil Monitoring Law*) та директив ЄС (*EU Soil Strategy for 2030*) мікробіом визначається як вирішальний біоіндикатор і об'єкт управління. Незалежно від походження, природні чи штучно сформовані мікробіоценози агроєкосистем, саме вони формують функціональну основу біологічної продуктивності та ґрунтової екологічної рівноваги, визначаючи колообіг елементів, трофічні взаємодії, рівень фітопатогенного тиску та здатність рослин до толерантності, епізоотії у шкідників сільськогосподарських культур тощо.

Отже, сучасні біологічні засоби захисту (біоінсектициди, біофунгіциди, біодобрива) пропонують альтернативні або комплементарні рішення, але їх вплив на функціонування і структуру мікробіоценозів, зміни резистомів, ферментативних профілів і мікробних взаємодії потребують системного оцінювання. Метааналізи та систематичні огляди демонструють, що використання пестицидів та агрохімікатів здатні спричинити істотні й кумулятивні порушення ґрунтових функцій, які підкреслюють необхідність застосування кількісних методів для об'єктивного моніторингу цих змін [3].

**Метою роботи** є узагальнення сучасних наукових підходів до оцінки структури та функціональної активності ґрунтових мікробіомів в агроценозах на основі куль-

туральних, молекулярних, метагеномних і біохімічних методів з урахуванням глобальних тенденцій біологічного контролю, зниження пестицидного навантаження та відновлення ґрунтової біоти.

## АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Упродовж останнього десятиліття наукова парадигма еволюціонувала від описового аналізу таксономічного складу мікробних угруповань до інтегрованого підходу, що поєднує структурні, функціональні, просторові та динамічні характеристики мікробіомів [4; 5]. В. Скляр [6] акцентує увагу саме на тому, що ґрунтові мікробіоми, як природні, так і штучно сформовані є ключовою складовою біорізноманіття педосфери, а їх функціонування важливе для екосистемної стійкості. Р. Nannipieri зі співавт. [7] показали, що ферментативна активність є чутливим індикатором змін у ґрунтовому середовищі та відображає інтегрований метаболічний потенціал мікробних спільнот. М.Д. Wallenstein і Е.К. Hall [8] наголошують, що поєднання біохімічних методів з аналізом експресії функціональних генів (метатранскриптоміка) дає змогу перейти від оцінки потенційної функції до аналізу реально реалізованих процесів у ґрунті. Такий підхід є особливо важливим для агроценозів, де мікробна активність істотно змінюється під впливом агротехнічних заходів. J.K. Jansson і K.S. Hofmockel [4] зазначають, що саме системний аналіз допомагає встановити функціональні зв'язки між мікробіомами й екосистемними сервісами, зокрема регуляцією вуглецевого балансу та емісії парникових газів.

В умовах біологізації сільського господарства зростає інтерес до штучно сформованих мікробіомів і мікробних консорціумів, спрямованих на оптимізацію живлення рослин та підвищення їх стійкості [9]. Р. Trivedi та співавт. [10] підкреслюють, що ефективність таких інтервенцій значною мірою визначається сумісністю введених мікроорганізмів із автохтонним мікробіомом та його функціональною організацією.

Це зумовлює необхідність попередньої комплексної оцінки природного мікробіому агроценозу. В. Волкогон [11] зауважує, що застосування біопрепаратів доцільно оцінювати не лише за приростом урожайності, а й за змінами ферментативної активності та мікробної біомаси ґрунту. О. Дем'янюк та ін. [12] встановили істотні зональні відмінності у функціональній активності мікробіомів ґрунтів України, що підтверджує необхідність регіоналізованих підходів до їх оцінки.

### ОСНОВНА ЧАСТИНА

Згідно з даними FAO, в 2023 р. [13] використано 3,73 млн т за діючими речовинами пестицидів, це у середньому навантаження по світу становило 2,4 кг/га, в Європі цей показник сягав 1,59 кг/га, в Океанії – 5,64 кг/га. В Україні, відповідно до даних Держстату [14], в 2021 р. сільгоспвиробниками використано 840,1 т пестицидів (фунгіциди і бактерициди – 147,9 т; гербіциди – 595,5; інсектициди та акарициди – 30,2; регулятори росту рослин – 64,9; інші – 1,6 т), у середньому це 1,4 кг/га. Пестициди знижують функціональну активність та різноманітність ґрунтових біот (ефект розміром від слабкого до помірного – залежно від класу, дози та частоти застосування). Дослідження показують, що різноманітність сумішей застосованих пестицидів посилює негативний ефект на функції мікробіоти [15]. Доведено, що фунгіциди найчастіше впливають на грибну компоненту, змінюють співвідношення мікроміцети/бактерія, відновлення може бути повільним; більшість фунгіцидів знижують «ґрунтове дихання» і загальну біологічну активність ґрунту [16].

Стосовно результатів використання гербіцидів вчені отримують різні суперечливі дані досліджень. З одного боку, гербіциди на основі діючої речовини glyphosate, фіксують зсуви у складі мікробіоти та зміни функцій; інші діючі речовини викликають слабкі або тимчасові ефекти [17]. Інсектициди на основі неонікотиноїдів можуть знижувати чисельність деяких груп та впливати на ґрунтові безхребетні, що опо-

середковано діє на мікробіологічні процеси.

Однак застосування пестицидів та агрохімікатів супроводжується істотними ризиками: призводить до відбору резистентних популяцій мікроорганізмів із деградацією ґрунтової мікробіоти, зниження біорізноманіття, накопичення й потрапляння потенційно токсичних елементів і метаболітів у ґрунтові води та харчові продукти створює загрози для довкілля й здоров'я людини (лікарська токсичність, забруднення водних мас), висока вартість препаратів і залежність від зовнішніх ринків роблять систему нестійкою у довготривалій перспективі [18]. Тому, хімічні засоби захисту рослин здатні порушувати «disease-suppressive» властивості ґрунтів, надовго змінюючи гомеостаз між усіма складовими екосистеми. Відповідно, хімічні методи мають використовуватися селективно з урахуванням доз, часових вікон, чергування діючих речовин і моніторингу резистентності мікроорганізмів. Відновлення мікробіоценозу після застосування пестицидів та агрохімікатів можливе і залежить від початкової різноманітності, фізико-хімічних властивостей ґрунту, наявності джерел реінюляції (сусідні необроблені ділянки), а також – мікроорганізмів, здатних деградувати відповідні пестициди. Деякі таксономи можуть швидко відновлюватися, тоді як інші – залишатися пригніченими довго.

Альтернативним, ефективним та еколого-безпечним доповненням хімічним препаратам є біологічний метод захисту агроценозів. З огляду на довгострокову сталість агроекосистем, біологічні методи мають великі перспективи як компонент стійкого управління [19]. Згідно із Законом України «Про державне регулювання сфери захисту рослин» (№ 4147-ІХ від 17.12.2024) «Біологічний метод захисту рослин» – метод захисту рослин від шкідливих організмів за допомогою агентів біологічного захисту рослин та/або продуктів їх життєдіяльності. Відповідно до того ж Закону, агентом біологічного захисту є природний ворог, антагоніст, конкурент чи інший організм, який застосо-

вують для боротьби із шкідливими організмами.

Відомо, що використання біологічного захисту допомагає не лише знизити ураження агроценозів фітопатогенними мікроорганізмами та фітофагами на 75–90%, а мінімізує контамінацію врожаю, знижує пестицидне навантаження. Зазвичай серед агентів біопрепаратів зустрічаються бактерії (*Pseudomonas*, *Bacillus*), мікроміцети (*Trichoderma*, *Beauveria*, *Metarhizium*), вірусні та бактеріальні фаги, які діють через конкурентну взаємодію за джерело живлення, виробництво антимікробних та антигрибних метаболітів, індукцію системної резистентності рослин тощо. У більшості випадків застосування біопрепаратів тимчасово змінює локальну таксономічну структуру (збільшення таксонів, пов'язаних із введеним агентом); індукуює корисні функціональні зміни шляхом підвищення ферментативної активності ґрунту чи самої рослини (наприклад нітрофікації, фосфатолітичної активності, пероксидазної активності); у деяких випадках — приводить до зниження локальної різноманітності за домінування внесеного штаму (залежно від норми використання і препаративної форми). Ефективність цих біопрепаратів залежить від типу препарату, мікроорганізму-агента, його селективності, препаративної форми, цільового об'єкта впливу.

Попри значні переваги, біологічні препарати на основі мікроорганізмів мають і певні обмеження. Саме серед обмежень доцільно наголосити на тому, що ефективність у полі може варіювати під впливом ґрунтових і кліматичних умов, існують проблеми зі стабільністю та формуляцією продуктів, масштабним виробництвом та стандартизацією штамів мікроорганізмів; у деяких випадках агенти біопрепаратів взаємодіють з місцевою мікробіотою не передбачувано, або їхня активність виявляється недостатньою за високого фону патогенів у агроценозі. Також є регуляторні й сертифікаційні бар'єри для ринку біологічних засобів.

Однак варто пам'ятати, що мікробіота ґрунту — це саморегульована система,

що формується на рівні ґрунтових агрегатів і мікрозон, які включають переважно рослинні рештки, гумусові комплекси й мінерали. Відповідно змінюється таксономічний склад і фізіологічна різноманітність ґрунтових мікроорганізмів. Мікробна біомаса — це важливий компонент органічної речовини ґрунту, кількісно і якісно варіює залежно від низки чинників, зокрема типу ґрунту, ступеня його окультурення, інтенсивності експлуатування, застосованих агротехнологій, пестицидів та агрохімікатів, кліматичних чинників. Тобто середовище існування мікроорганізмів за господарського використання ґрунтів набуває карбооліготрофних властивостей, які, обмежуючи утворення мікробної біомаси, знижують і продуктивність ґрунту.

Дослідники вважають, що здатність екосистеми підтримувати гомеостаз, визначається складністю поліфункціональних зв'язків та видовим різноманіттям ґрунтових мікроорганізмів, яку традиційно оцінюють із використанням екологічних індексів Шеннона і Сімпсона. Структура ґрунтового мікробного угруповання здатне змінюватися у відповідь на зміну параметрів навколишнього середовища, тому може слугувати діагностичним критерієм. Важливими показниками стану мікробіоценозу ґрунту є співвідношення чисельності мікроорганізмів певних еколого-трофічних груп, яке відображає спрямованість мікробіологічних процесів, що відбуваються в ґрунті, в напрямі деградації або відновлення його родючості [20]. Наприклад, посилення у структурі мікробіоценозу співвідношення мікроміцетів: бактерій у ґрунті використовуються як індикатори повернення екосистеми до природного стану. Також співвідношення бактерій і мікроміцетів у ґрунтовій мікробній біомасі дає уявлення про акумуляції або секвестрування карбону ґрунтами, а отже також може характеризувати їх газопродукційні властивості і бути чинником регулювання емісії CO<sub>2</sub> і N<sub>2</sub>O. Крім того, в екологічних дослідженнях ґрунтів широко застосовують окремі групи мікроорганізмів як тест-об'єкти. У більшості робіт для ін-

дикації сприятливого екологічного стану ґрунтового середовища використовують бактерії роду *Azotobacter*. Особливо чутливим щодо негативної дії природних та антропогенних чинників є вид *Azotobacter chroococcum*.

До традиційних підходів для кількісної оцінки життєздатних мікроорганізмів ґрунту і рослинних тканин належать культуральні методи. А саме підрахунок колонієутворювальних одиниць (КУО = CFU) на селективних середовищах. Цей підхід є найдоступнішим та інформативним для оцінки чисельності основних еколого-трофічних і таксономічних груп мікроорганізмів, що дає можливість оцінити базовий та функціональний мікробіом досліджуваної ніші. До недоліків належать: погана гомогенізація досліджуваного зразка; помилка в приготуванні розведень; неправильно відібрані чашки для підрахунку колоній (для мінімізації цього недоліку обирають чашки, де виросло колоній від 30 до 300); не відображають частину мікробного угруповання (некультивовані форми, viable but non-culturable (VBNC), unculturable pool) зазвичай такі мікроорганізми становлять від 0,01% до 1% за кількістю, але за таксономією цей показник може бути вище [21].

Отже, культуральні методи це досить економічні методи порівняно з іншими, які допомагають швидко оцінити ризики, визначити зменшення еколого-трофічних груп, спостерігати і фіксувати зміну стратегії мікробіоценозу. Втім, коли постає питання безпосередньо оцінки таксономічного та видового різноманіття мікробіоценозу, доцільно спиратись на результати досліджень молекулярними методами qPCR, ddPCR.

Real-time PCR (qPCR) кількісна ПЛР у реальному часі, котра дає змогу отримати абсолютну або відносну кількість копій цільової послідовності (таксономічний маркер або функціональний ген). Застосовують для моніторингу внесених штамів мікроорганізмів; кількісної оцінки функціональних генів (*nifH* (фіксація азоту), *amoA* (нітрифікація), *bphA* (деструкція

ароматичних сполук, біоремедіація) тощо); виявлення патогенів у ґрунті [22]. Основною перевагою методу є швидкість, висока чутливість, оптимальний метод під час моніторингу конкретних генів інтродукованих штамів мікроорганізмів. До недоліків методу відносять високу чутливість до інгібіторів у ґрунті, є випадки, коли результати не надійні й потрібно корегувати методику, і найголовніше, що цей метод не дає прямої інформації про метаболічну активність мікробіому [23].

Droplet digital PCR (ddPCR) — цифрова крапельна ПЛР, яка допомагає абсолютно кількісно визначати число копій ДНК або генів без потреби в стандартних кривих, на відміну від qPCR. Перевагою методу є висока точність і чутливість визначення низьких концентрацій нуклеїнових кислот або рідкісних генів мікроорганізмів у ґрунтових мікробіомах; моніторинг функціональних генів мікробіоти (*nifH*, *amoA*, *rpoA*, *phoD*, *bphA* та ін.), кількісна оцінка генів резистентності до пестицидів та антибіотиків (ARGs); визначення частки живих/активних клітин. Недоліки — низька продуктивність порівняно з qPCR за великої кількості зразків; не замінює метагеноміку/ампліконне секвенування; вимагає чіткого розділення флуоресцентних кластерів та оптимізації порогу; висока вартість обладнання та реактивів (порівняно з qPCR у 3–5 разів дорожче).

D. Wang із колегами [24] проведено порівняльне дослідження ddPCR та qPCR. Показано, що метод ddPCR мав вищу точність, повторюваність, чутливість та стабільність у кількісному визначенні бактерій (16S rRNA) і грибів (ITS), ніж qPCR.

Ще одним різновидом методів є кількісна метагеноміка та absolute quantification. Кількісна метагеноміка (quantitative metagenomics, qMG/qmNGS) дає можливість оцінити абсолютну чисельність генів/таксонів у зразку за використання внутрішніх стандартів і нормалізації. Цей підхід має великий потенціал для агроекологічного моніторингу, хоч і вимагає кваліфікований персонал, ретельну, спеціальну підготовку зразків, вартісне обладнання та значні ви-

трати на проведення дослідження, секвенування та біоінформатичних конвеєрів [25].

Дослідження мікробіому ґрунту з точки зору його функціонування має особливу наукову та практичну значущість. Саме функціональна складова мікробіомів відображає перебіг біогеохімічних процесів, що визначає стійкість і продуктивність агроєкосистем, а не лише таксономічний склад мікробіому. Оцінку функціональної активності мікробіому агроценозів виявляють за мікробною біомасою (регидраційний метод, CFE, PLFA), інтенсивністю емісії діоксиду вуглецю, ферментативними активностями.

Оскільки мікробна біомаса є важливим, живим і лабільним компонентом органічної речовини ґрунту та його природним мікробним потенціалом. Відповідно цей показник широко використовували під час оцінювання як стану мікробіоценозу, так і ґрунту. Швидкість оборотності мікробної біомаси становить 0,5–2 роки, а органічної речовини ґрунту понад 20 років, тому це дає можливість застосувати значення змін, які відбуваються з мікробною біомасою, в оцінюванні стану органічної речовини ґрунту. Регидраційний метод визначення вмісту мікробної біомаси в ґрунті має відносно високу чутливість, економічно доступний порівняно з іншими, допомагає фіксувати саме ті клітини мікробіому, які метаболічно активні, а не загальний запас як мертвої, так і живої біомаси. Цей метод є індикатором істинної біологічної активності ґрунту без розподілу на таксономічні складові мікробіому [26].

Метод Chloroform fumigation extraction (CFE) дає змогу оцінити загальний запас живої мікробної біомаси у ґрунті, але не показує, які саме групи — бактерії, гриби, актиноміцети домінують. Метод застосовують для оцінки впливу нових агротехнологій та заходів (органічне землеробство, мінімальний обробіток, рекультивация) на живу біомасу ґрунту. Вважається, що цей метод оптимально використовувати в поєднанні з визначеннями ферментативних активностей [27].

Метод Phospholipid fatty acid analysis (PLFA) або визначення профілю фосфоліпідних жирних кислот мікроорганізмів — допомагає оцінити загальну біомасу та співвідношення груп мікроорганізмів у зразку. Метод базується на тому, що фосфоліпіди мембран мікроорганізмів швидко розкладаються після загибелі. Тому аналіз PLFA у свіжому зразку ґрунту відображає лише живу частину мікробної спільноти та дозволяє кількісно визначити групи у мікробному угрупованні (частка гриби/бактерії, частка грам-позитивні/грам-негативні бактерії, стрептоміцети). Варто зазначити, що даний аналіз не дає можливості визначити види мікроорганізмів [28]. Перевагами методу є кількісна, функціонально-орієнтована інформація про зміни у співвідношенні груп мікроорганізмів після запровадження агрозаходів чи застосування певних пестицидів чи агрохімікатів. Однак є і певні недоліки, а саме значна трудоемність дослідження 1 зразка, наявність хроматографічної лабораторії з дорогим обладнанням; реактивами; певний «фон» PLFA може походити від решток рослин чи мертвих клітин, що потребує вчасного аналізу зразка і кваліфікованого персоналу.

Програмою стандартного моніторингу ґрунтів України запропоновано такі біодіагностичні показники: активність процесу азотфіксування, нітрифікаційна, амоніфікаційна і денітрифікаційна здатність, активність ферментів пероксидази, поліфенолоксидази, дегідрогенази, інвертази, а також сумарна біологічна активність за показником емісії діоксиду карбону. Втім такі показники біологічної активності ґрунту носять лише рекомендаційний характер. Також рекомендовано низку інтегрованих індексів та показників, а саме мультикомпонентні індекси, що комбінують таксономічні (різноманіття), кількісні (абсолютні копії генів) і функціональні (дихання, ензимні активності) показники в єдиний «індекс здоров'я ґрунту». Такі індекси дають можливість краще відображати агроєкосистемні послідовності та прогнозувати довгострокові зміни. Запропоновано чима-

ло методичних підходів і схем розрахунку індексів стану ґрунту, значення яких зіставляються із рівнями техногенного навантаження і / або категоріями якості навколишнього природного середовища. Також широко застосовується математичне моделювання біологічних процесів у ґрунті.

Сучасні підходи до вивчення ґрунтової мікробіоти у системах інтенсивного землеробства показують, що будь-яке використання хімічних або біологічних засобів захисту рослин неминуче викликає структурні й функціональні зрушення у мікробних угрупованнях. Перед внесенням засобів захисту рослин рекомендованим є створення базової «карти мікробіоти» конкретного агроценозу: визначення домінуючих таксонів бактерій (*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*) і грибів (*Ascomycota*, *Basidiomycota*), а також ключових функціональних груп — азотфіксаторів, целюлозоруйнівних та антагоністичних мікроорганізмів. Під час застосування важливо контролювати таргетні групи мікроорганізмів за допомогою qPCR та біоіндикаторних тестів (наприклад, інтенсивність ферментів β-глюкозидази й уреаз). Наприклад, дослідження в Китаї продемонстрували, що внесення азоксистробіну знижує активність уреаз на 25–30% у перші 10 днів після обробки, що свідчить про пригнічення амоніфікаторів. Після використання слід оцінювати швидкість відновлення мікробних угруповань. Згідно з даними довготривалих експериментів у Німеччині, повне повернення мікробіоти до вихідного стану може тривати 2–3 роки, особливо у ґрунтах із низькою органічною речовиною [29]. Водночас поєднання половинних доз фунгіциду тебуконазолу з біопрепаратом на основі *Trichoderma harzianum* в експериментах у Польщі сприяло ефективному контролю фузаріозів і водночас збереженню чисельності фосфатмобілізуючих бактерій [30]. До того ж доведено, що слід уникати одночасного застосування фунгіцидів із біопрепаратами, що містять гриби-антагоністи (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*), оскільки азоли та

стробілурини пригнічують їх ріст у ґрунті. Тому рекомендовано чергування: у фазі активного росту рослин — хімічний захист, а на етапі відновлення ґрунтової біоти — біологічні інокулянти. Через те дослідження мікробіому агроєкосистем мають системний і багаторічний характер з урахуванням як кліматичних показників, так і технологічних заходів.

## ВИСНОВКИ

Агрофітоценози є складними екосистемами, стійкість яких значною мірою визначається складом і функціональною активністю ґрунтового мікробіому. Культуральні методи залишаються доцільними для базового моніторингу життєздатних еколого-трофічних груп і біоіндикації екологічного стану ґрунту, проте не відображають некультивовану частину мікробіоти. Молекулярні методи (qPCR, ddPCR) є пріоритетними для кількісного контролю цільових таксонів і функціональних генів, зокрема в умовах пестицидного навантаження та за моніторингу інтродукованих мікроорганізмів. Кількісна метагеноміка є найінформативнішою для комплексної оцінки структури й функціонального потенціалу мікробіомів, проте значні часові та фінансові витрати дають змогу застосовувати лише за проведення фундаментальних досліджень. Функціональні показники (мікробна біомаса, ферментативна активність, емісія CO<sub>2</sub>) є чутливими індикаторами екологічних порушень і відновних процесів та мають ключове значення для оцінки стійкості агроєкосистем. Найперспективнішим напрямом є використання інтегрованих індексів «здоров'я ґрунту», що поєднують таксономічні, кількісні та функціональні параметри і допомагають прогнозувати довгострокові зміни мікробіоти за різних систем землеробства.

Отже, визначення структури та функціонального стану мікробіому в агроценозах — це складний процес, який вимагає поєднання кількісних, функціональних та таксономічних підходів. Відповідно, залежно від поставлених завдань та можливостей вчені мають обирати ті репрезента-

тивні методи, які дадуть можливість оцінити екологічні ризики та прогнозувати

розвиток досліджуваних процесів у агро-екосистемах.

## ЛІТЕРАТУРА

- Nadeu, E., Dijk, R., & Hiller, N. (2023). The Soil Microbiome: its contribution to soil health and One Health. *Institute for European Environmental Policy, Brussels*, 33. URL: <https://ieep.eu/wp-content/uploads/2023/12/The-Soil-Microbiome-ESAD-IEEP-2023.pdf>.
- Tecon, R., & Or, D. (2017). Biophysical processes supporting the diversity of microbial life in soil. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(5), 599–623. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsre/fux039>.
- Sharma, A., Kumar, V., Shahzad, B., Tanveer, M., Sidhu, G. P. S., Handa, N., ... Thukral, A. K. (2019). Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*, 1, 1446. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1485-1>.
- Jansson, J. K., & Hofmockel, K. S. (2020). Soil microbiomes and climate change. *Nat. Rev. Microbiol.*, 18(1), 35–46. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0265-7>.
- Delgado-Baquerizo, M., Oliverio, A. M., Brewer, T. E., Benavent-Gonzalez, A., Eldridge, D. J., Bardgett, R. D., ... Fierer, N. (2018). A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*, 359(6373), 320–325. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.9516>.
- Skliar, V., Bortnik, A., Zubtsova, I., Klymenko, H., & Vakal, A. (2025). Soil microbiomes as component of pedosphere biodiversity and factor in formation of crop yields. *Scientific Horizons*, 28(1), 100–109. DOI: <https://doi.org/10.48077/scihor1.2025.100>.
- Nannipieri, P., Trasar-Cepeda, C., & Dick, R. P. (2018). Soil enzyme activity: a brief history and biochemistry as a basis for appropriate interpretations and meta-analysis. *Biol. Fertil. Soils*, 54, 11–19. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00374-017-1245-6>.
- Wallenstein, M. D., & Hall, E. K. (2012). A trait-based framework for predicting when and where microbial adaptation to climate change will affect ecosystem functioning. *Biogeochemistry*, 109, 35–47. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10533-011-9641-8>.
- Shayanthan, A., Ordonez, P. A. C., & Oresnik, I. J. (2022). The Role of Synthetic Microbial Communities (SynCom) in Sustainable Agriculture. *Front. Agron.*, 4, 89–307. DOI: <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.896307>.
- Trivedi, P., Leach, J. E., Tringe, S. G., Sa, T., & Singh, B. K. (2020). Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nat Rev Microbiol.*, 18(11), 607–621. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00490-8>.
- Волкогон, В. В. (2024). Роль мікроорганізмів у первинних процесах формування родючості ґрунтів. *Сільськогосподарська мікробіологія*, 39, 3–21. DOI: <https://doi.org/10.35868/1997-3004.39.3-21>.
- Demyanyuk, O., Shatsman, D., & Symochko, L. (2020). Structure and Dynamics of Soil Microbial Communities of Natural and Transformed Ecosystems. *Journal of Environmental Research, Engineering and Management*, 76(4), 97–105. DOI: <https://doi.org/10.5755/j01.erem.76.4.23508>.
- Pesticides use and trade. 1990-2023. (2025). (Україна). URL: <https://www.fao.org/statistics/highlights-archive/highlights-detail/pesticides-use-and-trade-1990-2023>.
- Застосування пестицидів під урожай сільськогосподарських культур 2021 року. (2021). (Україна). URL: [https://lg.ukrstat.gov.ua/sinf/shoz/shoz\\_zastos\\_pestyc\\_2021](https://lg.ukrstat.gov.ua/sinf/shoz/shoz_zastos_pestyc_2021).
- Ni, B., Xiao, L., Lin, D., Zhang, T., Zhang, Q., Liu, Y., ... Zhu, Y. (2025). Increasing pesticide diversity impairs soil microbial functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 122(2), e2419917122. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2419917122>.
- Wang, Z., Yun, S., An, Y., Shu, L., Li, Sh., Sun, K., & Zhang, W. (2025). Effect of fungicides on soil respiration, microbial community, and enzyme activity: A global meta-analysis (1975–2024). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 289. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.117433>.
- Kepler, R. M., Epp Schmidt, D. J., Yarwood, S. A., Cavigelli, M. A., Reddy, K. N., Duke, S. O., ... Male, J. E. (2020). Soil Microbial Communities in Diverse Agroecosystems Exposed to the Herbicide Glyphosate. *Appl Environ Microbiol.*, 86, 17–44. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.01744-19>.
- Thalassinou, G., Petropoulos, S. A., Grammenou, A., & Antoniadis, V. (2023). Potentially Toxic Elements: A Review on Their Soil Behavior and Plant Attenuation Mechanisms against Their Toxicity. *Agriculture*, 13(9), 1684. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13091684>.
- Rowinska, P., Gutarowska, B., Janas, R., & Szulc, J. (2024). Biopreparations for the decomposition of crop residues. *Microbial Biotechnology*, 17(8). DOI: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.14534>.
- Бунас, А. А., Шерстобоева, О. В., Ткач, Є. Д., Мовчан, І. П., & Дворецький, В. В. (2025). Роль штучно сформованого мікробіому ґрунту в циклі вуглецю. *Сільськогосподарська мікробіологія*, 41, 3–18. DOI: <https://doi.org/10.35868/1997-3004.41.3-18>.
- Vuolo, F., Novello, G., Bona, E., Gorrasi, S., & Gamalero, E. (2022). Impact of Plant-Beneficial Bacterial Inocula on the Resident Bacteriome: Current Knowledge and Future Perspectives. *Microorganisms*, 10(12), 2462. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122462>.
- Duff, A. M., Giles, M., Ganasamurthy, S., Santos, A., Morales, S. E., & Brennan, F. (2025). Counting soil microbial communities: the impact of qPCR platform and mastermix on accuracy and precision. *FEMS Microbiology Ecology*, 101(8), 73. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaf073>.
- Xue, R., Stirling, E., Zhao, K., Wang, Y., Ye, Sh., Xu, J., & Ma, B. (2024). Putting cell size into per-

- spective: Soil bacterial diversity and predictive function. *Geoderma*, 443. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2024.116804>.
24. Wang, D., Wang, S., Du, X., He, Q., Liu, Y., Wang, Z., ... Deng, Y. (2022). ddPCR surpasses classical qPCR technology in quantitating bacteria and fungi in the environment. *Mol. Ecol. Resour.*, 22(7), 2587–2598. DOI: <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13644>.
25. Wang, C., Yang, Y., Xu, X., Wang, D., Shi, X., Liu, L., ... Zhang, T. (2025). The quest for environmental analytical microbiology: absolute quantitative microbiome using cellular internal standards. *Microbiome*, 13, 26. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-024-02009-2>.
26. Bagheri-Novair, S., Mirseyed Hosseini, H., Etesami, H., Razavipour, T., Asgari Lajayer, B., & Astatkie, T. (2020). Short-term soil drying-rewetting effects on respiration rate and microbial biomass carbon and phosphorus in a 60-year paddy soil. *Biotech.*, 10(11), 492. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02486-w>.
27. Oren, A., Rotbart, N., Borisover, M., & Bar-Tal, A. (2018). Chloroform fumigation extraction for measuring soil microbial biomass: The validity of using samples approaching water saturation. *Geoderma*, 319, 204–207. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.01.007>.
28. Zhang, S., Jiao, X., Kang, H., & Yu, W. (2025). Efficiency evaluation of phospholipid fatty acid method based on lipid standards: methanol failed to recover a majority of phospholipids yet eluted unexpected glycolipid. *Front. Microbiol.*, 16, 1587425. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1587425>.
29. Swaine, M., Bergna, A., Oyserman, B., Vasileiadis, S., Karas, P. A., Screpanti, C., & Karpouzas, D. G. (2025). Impact of pesticides on soil health: identification of key soil microbial indicators for ecotoxicological assessment strategies through meta-analysis. *FEMS Microbiol Ecol.*, 101(6), fiaf052. DOI: <https://doi.org/10.1093/femsec/fiaf052>.
30. Streletskii, R., Astaykina, A., Krasnov, G., & Gorbатов, V. (2022). Changes in Bacterial and Fungal Community of Soil under Treatment of Pesticides. *Agronomy*, 12(1), 124. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy12010124>.

Дата першого надходження рукопису до редакції: 15.12.2025  
Дата прийняття статті до друку після рецензування: 04.01.2026  
Дата публікації: 27.02.2026