

**ВПЛИВ НА МЕТАГЕНОМ ҐРУНТУ НОВОГО ДЛЯ НАУКИ ВИДУ ЕНДОФІТУ
VITASERGIA SVIDASOMA VS 1223 (IMB F-100106), ВИДІЛЕНОГО З ЧОРНОГО ТРЮФЕЛЯ**

Оліферчук Вікторія Петрівна

кандидат біологічних наук, доцент
Національний лісотехнічний університет України, м. Львів, Україна
ORCID: 0000-0003-2800-2254
victorijaoliferchuk@gmail.com

Федорович Дарія Василівна

доктор біологічних наук, професор
Інститут біології клітини Національної академії наук України, м. Львів, Україна
ORCID: 0000-0001-6956-3109
fedorovych.d@gmail.com

Самборський Маркіян Васильович

кандидат біологічних наук
ТОВ Експлоджен, м. Львів, Україна
ORCID: 0000-0002-6946-0385
markiyansamborskyu@cantab.net

Самарська Марія Ігорівна

аспірантка
Національний лісотехнічний університет України, м. Львів, Україна
ORCID: 0000-0002-1519-9812
orehopitomnik@ukr.net

У статті наведено результати досліджень метагеному ґрунту розсадника горіхоплідних культур, де проводили обробку рослин дріжджовим грибом родини *Debariomycetaceae* *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106), який є діючим агентом препарату «Міковітал». За використання методики ампліконового секвенування 16S рРНК та ITS2 вивчено склад та структуру бактеріального та міцеліального угруповання у зразках досліджуваного ґрунту без обробки препаратом. Були отримані операційні таксономічні одиниці (OTU) шляхом кластеризації з ідентичністю 97% на ефективних тегах зразків, які були ідентифіковані. Для відображення складу мікроорганізмів та інформації про їх кількість та видове різноманіття у зразках було створено інтерактивну веб-сторінку Heatmap із представленням таксономічних анотацій, що відповідають OTU. Результати свідчать, що основні функціональні гени бактерій у ґрунтах розсадника належать до трьох основних відділів *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*. Відділ *Proteobacteria* був широко представлений у необробленому препаратом «Міковітал» ґрунті через рід *Echerichia*, представники якого становили понад 87%. Після обробки видом *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106) їх кількість знизилась до 7%. У ризосферному мікробіомі горіха волоського виявлено 20 філумів бактерій, що нараховують 83 роди та 6 філумів грибів, які нараховують 100 родів грибів, а також неklasифіковані послідовності, відносна частка яких у мікробіомі становила 3,04–7,86%. Аналіз таксономічної структури мікробіому на рівні філумів показав, що абсолютними домінантами були бактерії – 38,7–100%. Серед грибів відділ *Ascomycota* (41,01–93,17%), є абсолютним домінантом у обох екотопах. Крім того є представники відділів *Basidiomycota* (2,82–6,40%) та *Monerelomycota* (0,82–0,41%). У відділі *Ascomycota*, який містить найбільшу кількість мікоризоутворюючих грибів, збільшується їх представництво після застосування препарату «Міковітал», натомість зменшується кількість мікроміцетів-патогенів, токсинуотворювачів, збудників гнилей. Виявлено, що більш різноманітним став ризосферний мікробіом ґрунту за умов інокуляції рослин видом *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106).

Ключові слова: метагеном ґрунту, *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106), біорегуляція, ендоефіт, симбіоз.

DOI <https://doi.org/10.32782/agrobio.2023.1.10>

Вступ. У сучасних умовах надмірного антропогенного впливу на ґрунтові екосистеми, важливими є процеси біорегуляції мікробіому ґрунту задля ефективного відновлення загальної мікоризної сітки в екосистемі та стимуляції природних процесів, які забезпечують імунітет рослин та їх продуктивність.

Найбільш поширеним методом біорегуляції в агро-екосистемах є внесення біологічних препаратів у технологіях вирощування сільськогосподарських культур, які забезпечують відновлення мікро- та мікобіоти ґрунтів, і відповідно, сприяють зростанню врожайності. Цей метод активно застосовують у сільському госпо-

дарстві, який є доволі ефективним та екологічно безпечним.

Ми пропонуємо ще один підхід, який полягає у наступному: кожен ґрунт має свій міко- та мікробіом, і у зв'язку з тим, які методи обробітку ґрунту використовуються, такі з видів мікроорганізмів та грибів будуть домінувати в ґрунтах. Для того, щоб стимулювати, до прикладу, розвиток азотфіксуючих та фосфатомобілізуєчих бактерій та мікоризних грибів в агроценозах, а уникнути розвитку патогенів, пропонуємо застосовувати організми V – стратеги (Oliferchuk V., Kendzora N., Shukel I., et al., 2023) Такий підхід дасть змогу стимулювати розвиток притаманної конкретному ґрунту мікро- та мікобіоти, не вносити чужорідний генетичний матеріал там, де він не потрібен. Цей підхід також дасть можливість агровиборникам і науковцям активно співпрацювати разом для ефективного відтворення ґрунту та створення стабільного симбіозу «бактерія-гриб-рослина».

Серед представників мікобіоти мікоризні гриби є найважливішими постачальниками поживних речовин з обмеженою дифузійною здатністю таких елементів як фосфор, нітроген, цинк, сірка тощо. Мікоризоутворюючі гриби є обов'язковими біотрофами, потреби в живленні яких залежать від рослин-господарів. Вони глобально впливають на екосистемні процеси (Oliferchuk et al., 2023). Мікоризні гриби забезпечують безперервне надходження поживних речовин і демонструють стійкість до різноманітних екологічних стресів, таких як посуха, повінь, токсичність металів, засолення тощо (Dhiman et al., 2020; Malgioglio et al., 2022).

Взаємодія рослин і мікроорганізмів складається з комплексу складних процесів, які проходять у двох системах різного рівня організації: з однієї сторони це мікробний та грибний ценоз кореневої зони рослин, а з іншої – вищі судинні рослини, які також пов'язані між собою у фітоценозах. У результаті такої взаємодії формуються стійкі системи «бактерії-гриби-рослини», які відіграють ключову роль у функціонуванні природних едафотопів та штучно створених людиною агроекосистем (Gregory, 2022; Moenne-Loccoz et al., 2015).

Мікоризні асоціації рослин мають вплив на геохімічні цикли карбону та інших макроелементів, необхідних для росту і розвитку рослин (Finlay et al., 2020; Leake & Read, 2017).

Позитивна роль мікроорганізмів у кореневій зоні рослин проявляється в трансформації органічних залишків, синтезі гумусу, покращенні мінерального живлення рослин нітрогеном, фосфором та іншими макро- та мікроелементами, біоконтролі над патогенами та шкідниками, продукуванні біологічно активних речовин, які стимулюють ріст і розвиток рослин, детоксикацію антропогенних забруднень (Demyanyuk et al., 2018; Demyanyuk et al., 2020; Garcia et al., 2016; Kamel et al., 2017; Jacoby et al., 2017; Udvardi & Poole, 2013). В свою чергу, рослини обирають певні таксони ендоефітів і таким чином здійснюють контроль над своїми мікробіомами (Bulgarelli et al., 2012; Bulgarelli et al., 2015; Turner et al., 2013; Zgad Zaj et al., 2016). Така ідеальна картина позитивних взаємодій порушується, якщо за дії природних або антропогенних

чинників зміщується рівновага в мікробно-рослинній системі (IPBES, 2019). Лише в останні десятиліття людство почало відкривати та ідентифікувати величезну різноманітність мікроорганізмів і мережу взаємодій, у яких вони функціонують (Bahram et al., 2018). Нині описано лише 0,01% мікробного світу (Locey & Lennon, 2016), і ми мало знаємо про їхні екологічні функції (Baldrian, 2019).

Мета дослідження – вивчити вплив нового для науки виду ендоефіту *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106), виділеного з плодового тіла чорного трюфеля, на метагеном ризосфери ґрунту горіха волоського.

Матеріали і методи досліджень. Для експерименту був обраний розсадник горіхоплідних культур «Дніпро», створений у 2015 р. на території Дніпропетровської обл. (Апостолівський р-н, с. Новоукраїнське).

Перед експериментом на всю територію розсадника внесли надлишкову кількість органіки (гноївку тварин). Розсадник було поділено на дві ділянки, на одній з яких під кожне дерево методом ін'єкцій за використання мікоризатора було внесено препарат «Міковітал» згідно з інструкції до використання. Іншу ділянку розсадника не обробляли препаратом.

Діючим агентом препарату «Міковітал» є ендоефіт *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106), виділений з плодового тіла чорного трюфеля (Oliferchuk & Oliferchuk, 2016). Штам задепоновано в Депозитарії Інституту мікробіології і вірусології НАН України, за послідовністю ДНК ITS2 елементу цей штам визнано як новий вид для науки.

З обох дослідних ділянок із ризосфери рослин були відібрані зразки ґрунту, з яких виділяли метагеномну ДНК. Відбір зразків ґрунту проводили за стандартними методиками (Билай В.И., 1982.). Вихід ДНК для зразка 1 (без міко) – без застосування обробки грибом становив 4,5 мкг/г ґрунту та 1,8 мкг/г ґрунту для зразка 2 (міко) – ґрунт, оброблений препаратом (рис. 1).

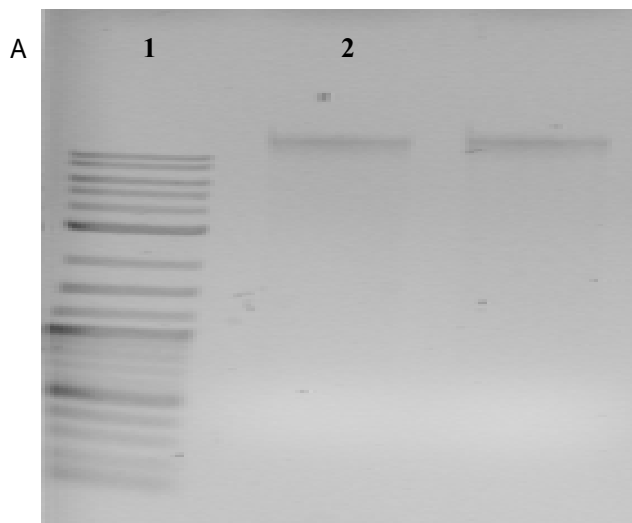


Рис. 1. Гель-електрофорез метагеномної ДНК
Доріжка А представляє Quick-Load Purple 1 kb Plus DNA Ladder (NEB), доріжка 1 – метагеномну ДНК (без міко), доріжка 2 – метагеномну ДНК (міко)

У дослідженнях використовували технології ампліконового секвенування 16S р ДНК та ITS2 у рибосомній ДНК (Magoc & Salzberg, 2011; Bokulich et al., 2013; Caropaso et al., 2010; Edgar et al., 2011; Haas et al., 2011; Edgar, 2013) і застосували цю технологію для вивчення бактеріальної та грибною структури ґрунту (Caropaso et al., 2011; Youssef et al., 2009; Hess et al., 2011; DeSantis et al., 2006). Ампліконове секвенування 16S рДНК зазвичай вибирає одну або кілька гіперваріабельних областей, конструює універсальні праймери в консервативних областях для ампліфікації ПЛР, а потім аналізує послідовності та ідентифікує мікроорганізмів на гіперваріабельних областях (Magoc & Salzberg, 2011; Bokulich et al., 2013; Caropaso et al., 2010).

У геномі гриба є різні області, які можна також використовувати для секвенування. Найпоширенішою областю ДНК у грибів є область ITS (внутрішній транскрибований простір) у рибосомній ДНК, включаючи ITS1 та ITS2. ITS1 знаходиться між генами рРНК 18S та 5.8S, тоді як ITS2 знаходиться між 5.8S та (26S у рослин або 28S у тварин) генами рРНК. Він має високий ступінь варіацій, навіть між близькими видами. Це можна пояснити низьким еволюційним тиском, а також припустити відсутність еволюції взагалі, і що кожен вид гриба створений для певної лише йому визначеної функції, і тому має такий високий рівень варіації між близькими видами, на що вказує ITS2, що діє на такі некодуючі спейсерні послідовності (Altschul et al., 1990; Wang et al., 2007; Quast et al., 2013). Нині ITS-область є найбільш широко послідовною ДНК-областю в молекулярній екології грибів і рекомендована як універсальна послідовність штрих-коду грибів, вона може бути добре анотована базою даних Unite INSDC.

Сіквенс аналіз ґрунтових зразків. Методика метагеномної екстракції ДНК з ґрунту. Було використано модифікований протокол для виділення метагеномної ДНК із ґрунту (Edgar, 2004).

Оцінка виходу та чистоти метагеномної ДНК. Рівний об'єм (2 мкл) екстрактів метагеномної ДНК заванта-

жували в 1% (мас./об.) агарозного гелю разом із 2 мкл Quick-Load Purple 1 kb Plus DNA Ladder (NEB). Після електрофорезу гель фарбували бромідом етидію, а смуги візуалізували за допомогою Syngene GeneGenius Bio Imaging System. Визначали концентрацію та чистоту метагеномної ДНК.

ПЛР ампліфікують 16S та ITS2 рДНК здійснювали з праймерами (v1-4). Бібліотеки для секвенування ампліконів на платформі Illumina були створені з використанням NEBNext® DNA Library Prep Kit. Продукти приготування бібліотеки аналізували на розподіл за розмірами за допомогою біоаналізатора Agilent 2100 та кількісно визначали за допомогою ПЛР у реальному часі. Секвенування здійснювали на платформі Illumina MiSeq (2x250bp) Обробку результатів 16S та ITS2 секвенування здійснювали згідно з методикою обробки даних. Випадковий вибір 5000 читань із вибірки одностороннього fq порівнюється з базою даних Nt. Варіації послідовності генів 16S та ITS2 рДНК використовувались для характеристики мікробних та грибних спільнот ризосфери ґрунту горіха волоського у розсаднику «Дніпро». Значимість структури відмінностей мікробних спільнот між групами перевіряли за допомогою методів T-тест, MetaStat, LEfSe, Anosim та MRPP. Вплив зміни фактору навколишнього середовища (в даному випадку інюкуляція коренів рослин стимулятором утворення мікоризи) дав аналіз CCA/RDA та кореляційний аналіз.

Для того, щоб вивчити склад мікробної спільноти у кожному зразку, були отримані операційні таксономічні одиниці (OTU) шляхом кластеризації з ідентичністю 97% на ефективних тегах усіх зразків, а потім ідентифіковані.

Згідно з результатами ідентифікації встановлювали видовий склад бактерій та грибів у кожному із зразків, які належали досліджуваним ґрунтам. Були отримані теплові карти. Підрахунки підфарбовуються на основі відсотка внеску кожного OTU до загальної кількості OTU в одному зразку (синій: додає низький відсоток OTU до вибірки; червоний: вносить високий відсоток OTU). Про-

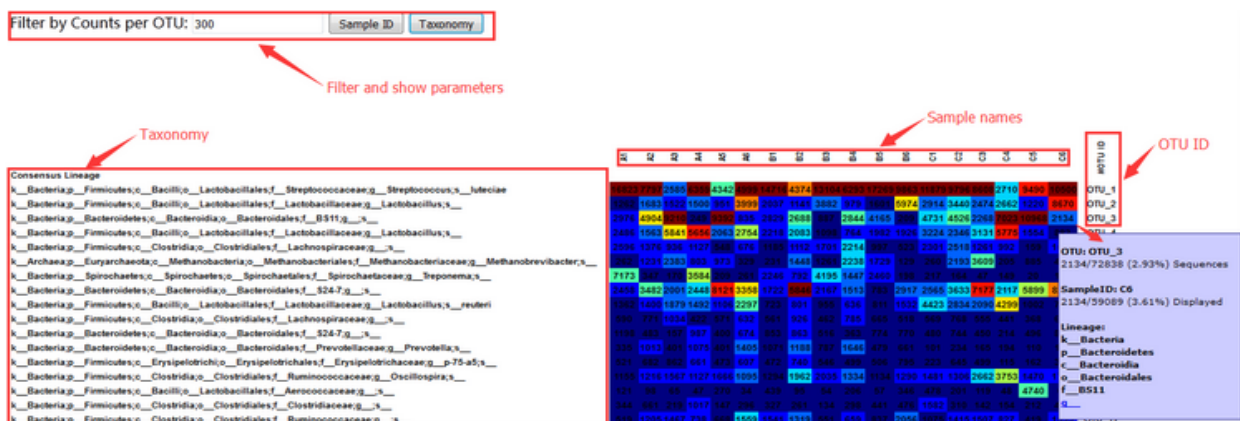


Рис. 2. Приклад теплової карти результатів анотації послідовності OTU

Теплова карта вказує на розподіл основних функціональних генів у метагеномах ґрунту без унесення препарату та після застосування препарату «Міковітал». Гени тих бактеріальних та грибних таксонів, які надмірно представлені, показані на тепловій карті більш темно-синім кольором; світліші дані представляють гени, які недостатньо представлені (тобто гени з найнижчими рівнями відносної кількості)

грама пропонує каталог результатів, на основі яких проводяться заключення.

Послідовність обробки даних. Зчитування в спареному кінці було призначено зразкам на основі їхніх унікальних штрих-кодів та усичене шляхом вирізання послідовностей штрих-коду та праймера. Парні зчитування були об'єднані за допомогою FLASH (V1.2.7) (Magoc & Salzberg, 2011).

Якісну фільтрацію на необроблених тегах проводили за певних умов фільтрації для отримання високоякісних чистих тегів (Bokulich et al., 2013) відповідно до Qiime (V1.7.0) (Caporaso et al., 2010). Теги порівнювали з базовою базою даних SILVA за допомогою алгоритму UCHIME (Edgar et al., 2011). Після видалення химер були отримані ефективні теги (Naas et al., 2011).

Для побудови діаграми дерева анотацій кожної групи використовували GraPhlAn (Asnicar et al., 2015).

Аналіз послідовностей кластеру OTU та таксономічна анотація проводилася за допомогою програмного забезпечення Uparse (Edgar, 2013).

Для кожної репрезентативної послідовності Qiime (Altschul et al., 1990) у методі Мотура проводився проти бази даних SSUrRNA база даних SILVA. Для отримання філогенетичних відносин усіх репрезентативних послідовностей OTU використовували MUSCLE (Edgar, 2004).

Інформація про кількість OTU була нормалізована за допомогою стандарту порядкового номера, відповідного зразку з найменшими послідовностями. Подальший аналіз альфа- та бета- різноманітності проведено на основі цих вихідних нормалізованих даних.

Результати. Вивчення експресії генів шляхом прямого секвенування та аналізу метагеномів у певний час і в певному просторі розкриває структурні та функціональні уявлення про мікробні й грибні спільноти. Порівняльний аналіз метагеномів виявив широкий спектр мікробних та грибних угруповань у ґрунті обох варіантів досліджу.

У ризосферному мікробіомі горіха волоського, інокульованого препаратом «Міковітал» виявлено 20 філумів бактерій, що нараховують 83 роди та і 6 філумів грибів, які нараховують 100 родів грибів, а також некласифіковані послідовності, відносна частка яких у мікробіомі становила 3,04–7,86%. Аналіз таксономічної структури мікробіому на рівні філумів показав, що абсолютними домінантами були бактерії – 38,74–100%. Серед ідентифікованих бактеріальних філумів було три – *Actinobacteriota* (26,41–68,20%), *Firmicutes* (5,93–15,32%) і *Proteobacteria* (3,29–8,50%). Згідно з опрацьованими даними тип *Proteobacteria* представлений двома класами *Alfaproteobacteria* та *Gammaaproteobacteria*. *Alfaproteobacteria* включає десять порядків, натомість у наших зразках має своє широке представництво лише у двох порядках *Rhizobiales* та *Shingomonadales*. *Proteobacteria* включають широкий спектр патогенних родів, до яких належить *Echerichia*, *Vibrio* тощо. У досліджуваному ґрунті представники роду *Echerichia* становили понад 87%. Порядок *Rhizobiales* включає більшість фототрофних родів, які широко представлені у досліджуваних ґрунтах. Представники

порядку *Shingomonadales* можуть розщеплювати ароматичні сполуки, що є перспективним у відновленні навколишнього природного середовища.

Аналіз таксономічної структури мікробіому на рівні філумів у ґрунті без застосування мікоризного препарату та з його застосуванням показав приналежність грибів до відділів *Ascomycota* (41,01–93,17%), який є абсолютним домінантом у обох екотопах, *Basidiomycota* (2,82–6,40%) та *Monerelomycota* (0,83–0,41%). Дерево OTU для однієї групи наведено на рис. 3.

Показано, що більш різноманітним був ризосферний мікробіом ґрунту за умов інокуляції рослин *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106). Так, домінантами, з відносною часткою в загальному мікробіомі були *Thermoleophilla* – 8,44–21,81%, *Actinobacteria* – 12,16–31,48%, *Rubrobacteria* 5,81–14,99%. Домінували серед бактерій класу *Actinobacteria* родина *Frankiales* – 5,65–14,60%, *Micrococcales* – 3,99–10,3%.

Субдомінантами серед бактеріальних філумів були *Firmicutes* – 5,93–15,32%, *Chloroflexota* – 3,04–7,86%, *Proteobacteria* – 3,29–8,50%, найменш чисельною була родина *Bacteriodota* – 0,05–0,13% (рис. 3).

Обговорення. У мікробіомі досліджуваних ґрунтів представлені види, що належать до родів, які відіграють ключову роль у формуванні здорового ґрунтового середовища. Так, рід *Geodermatophilus* – родина актинобактерій у порядку *Geodermatophiliales* виробляють стійкі ферменти-естерази, які мають здатність протистояти несприятливим умовам навколишнього природного середовища, таким як ультрафіолетове світло, іонізуюче випромінювання, і важкі метали. Ця стійкість до негативного впливу екологічних чинників є ознакою *Terrabacteria*, філогенетичної групи, що складається з *Actinobacteria* і чотирьох інших основних ліній еубактерій (*Firmicutes*, *Cyanobacteria*, *Chloroflexi* і *Deinococcus*).

Nocardioidea грампозитивний, мезофільний та аеробний бактеріальний рід із родини *Nocardioideaceae*. Описана здатність *N. simplex* розкладати суміш *Rubrobacter*. Ці актинобактерії володіють високою толерантністю до гербіцидів 2,4-Д та 2,4,5-Т і є індикаторами стресогенних умов в ґрунті. В мікробіомі розсадника цей рід займає 5,09–14,90%.

Kribbella, актиномицети, які мають більшу, ніж інші групи організмів здатність синтезувати біологічно активні речовини. *Actinobacteriota* – мають велике економічне значення, оскільки сільське господарство та ліси залежать від їхнього внеску в ґрунтові системи. У ґрунті вони сприяють розкладанню органічної речовини мертвих організмів, їх кількість у мікоризованому ґрунті збільшилась з 0,27% до 0,69%. *Angustibacter* – актинобактерії, деякі з яких живуть у симбіозі з рослинами, фіксують азот.

Як відомо, значну роль у процесах мікоризоутворення відіграють бактерії на стадії перед симбіозом. У мікробіомі мікоризованого горіхового розсадника представлений *Marmoricola* – грампозитивний і хемоорганотрофний рід бактерій із родини *Nocardioideaceae*, який активно колонізує корені рослини, є стимулятором мікоризоутворення завдяки синтезу біологічно активних речовин.

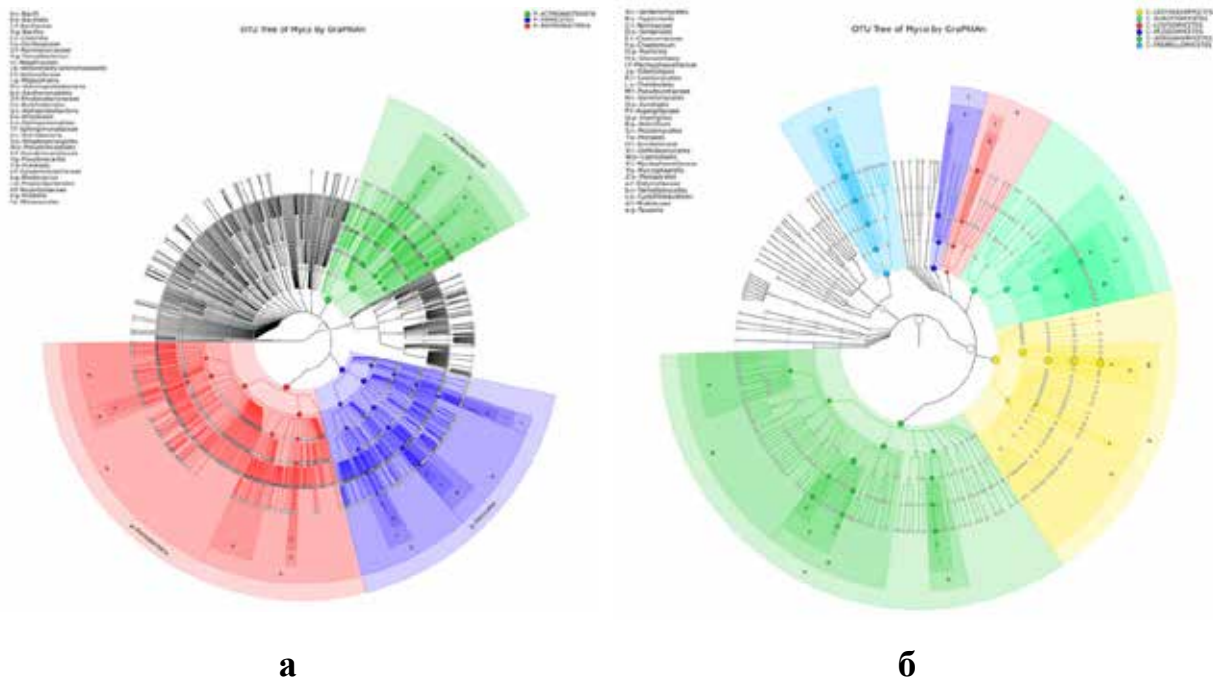


Рис. 3. Дерево анотацій OTU за допомогою GraPhlAn для бактерій (а) та для грибів (б)

Різні таксономічні ранги варіюються навиворіт. Розмір кіл означає велику кількість видів. Різні кольори позначають різні види. Суцільні кола представляють 40 найкращих видів, які мають високу частоту траплення. Програма пропонує каталог результатів на основі яких був проведений аналіз даних

Gemmatimonas – бактерії, кількість яких збільшується від мульчування дерев та застосування біотехнологій, зокрема внесення біочару, оскільки вони беруть участь у трансформації органічних речовин. *Azotobacter* – бактерії, які мають величезне значення для азотного живлення рослин, фіксуючи азот атмосфери і перетворюючи його на аміак, у мікоризованій частині розсадника збільшували свою кількість у двічі. Рід *Nitrosospora* здійснює першу стадію нітрифікації – окислення амонійного азоту до нітритів, окислює аміак. *Nitrospira* – окислює нітрити на другому етапі нітрифікації. Рід *Paenibacillus* є представником ризосферної мікробіоти, деякі штами – ендосфіти, колонізують тканини рослин і володіють бактерицидною та фунгіцидною дією. Рід *Bacillus* та *Pseudomonas* використовують як засіб біологічного контролю захворювань рослин, оскільки велика кількість штамів синтезують біологічно активні екзометаболіти: ферменти, пігменти, полісахариди, поліаміни тощо. Рід *Comamonas* бере участь у природних процесах біодеградації. Представники родини *Pseudomonadaceae* – група бактерій, що розкладають органічні рештки та протидіють патогенам. Бактерії роду *Pseudomonas* давно привертають увагу, як продуценти широкого спектра різних сидерофорів. Вони стимулюють ріст рослин та пригнічують проліферацію фітопатогенних грибів, синтезують сидерофори, які зв'язують більшу частину Fe (III), що знаходиться в шарі ґрунту ризосфери. *Verrucomicrobia*, пов'язана з “*Candidatus Udaeobacter*”, належить до найпоширеніших ґрунтових бактерій у всьому світі. Представники *Udaeobacter* можуть використовувати поживні речовини, які вивільняються внаслідок лізису інших ґрун-

тових мікроорганізмів за дії антибіотиків і тим самим зменшувати енергетично дорогий синтез необхідних біомолекул.

У мікоризованому ґрунті різко знизилась кількість видів та родів типу *Proteobacteria* до яких належать відомі патогени як кишкова паличка (*E.coli*), сальмонелла – (*Salmonella bongori*), вібріон (*Vibrio cholerae*), чумна паличка (*Yersinia pestis*). Також, спостерігали зниження видового різноманіття філіуму *Firmicutes*, деякі з яких є відомими патогенами, утворюють ендоспори, які є дуже стійкими до висушування і можуть витримувати екстремальні умови навколишнього природного середовища. Натомість, збільшилась кількість видів філіуму *Chloroflexi*, серед яких екстремальні термофіли, що можуть рости при температурах +35 °C...+70 °C. Ми пов'яжемо збільшення кількості екстремальних термофілів із впливом *Vitasergia svidasoma* VS 1223 IMB F-100106, що є важливо за сучасних тенденцій змін клімату. Завдяки діяльності зелених та пурпурових сіркобактерій, які використовують сірководень як донор електронів, екосистеми очищуються від H₂S, що дає змогу знизити викиди парникових газів у атмосферу. Представники родини *Chloroflexaceae* окиснюють як донори електронів H₂S та H₂ для асиміляції CO₂. Окиснення CO₂ відбувається до S⁰, яка накопичується в середовищі і далі ними не окиснюється. Кількість цих бактерій у мікоризованому ґрунті збільшилась від 0,35% до 0,98%. Дані описані на основі аналізу дерев таксономії для бактерій та грибів для групи та однієї вибірки (рис. 4, 5).

Отже, можемо припустити, що, впливаючи на структуру мікробоценозу, *Vitasergia svidasoma* опосередковано сприяє активному перетворенню сірки. Такі

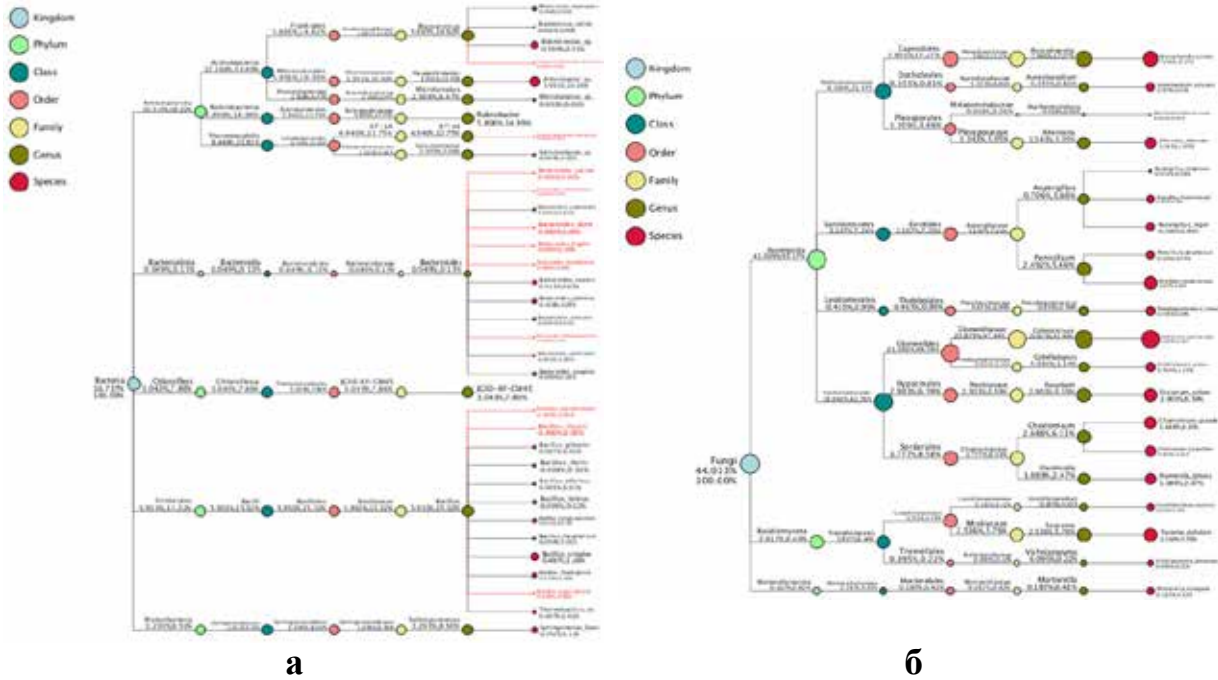


Рис. 4. Дерево таксономії однієї вибірки для бактерій (а) і грибів (б)

Різні кольори представляють різні таксономічні ранги. Розміри кіл вказують на відносну чисельність видів. Перше число під таксономічною назвою означає відсоток у всьому таксоні, а друге число – відсоток у вибраному таксоні

висновки ми можемо зробити ще й тому, що спостерігали протягом тривалого часу приживлення та активний ріст рослин, корені яких були інокульовані препаратом «Міковітал» на ґрунтах, де SO_4^{2-} у ґрунтового розчині

перевищувала фонову концентрацію від 4 до 50 разів (Nazarovets & Oliferchuk, 2013; Oliferchuk & Shukel, 2022). У цих умовах відбувається підвищення коефіцієнта використання азоту, синтез сірковмісних амінокислот,

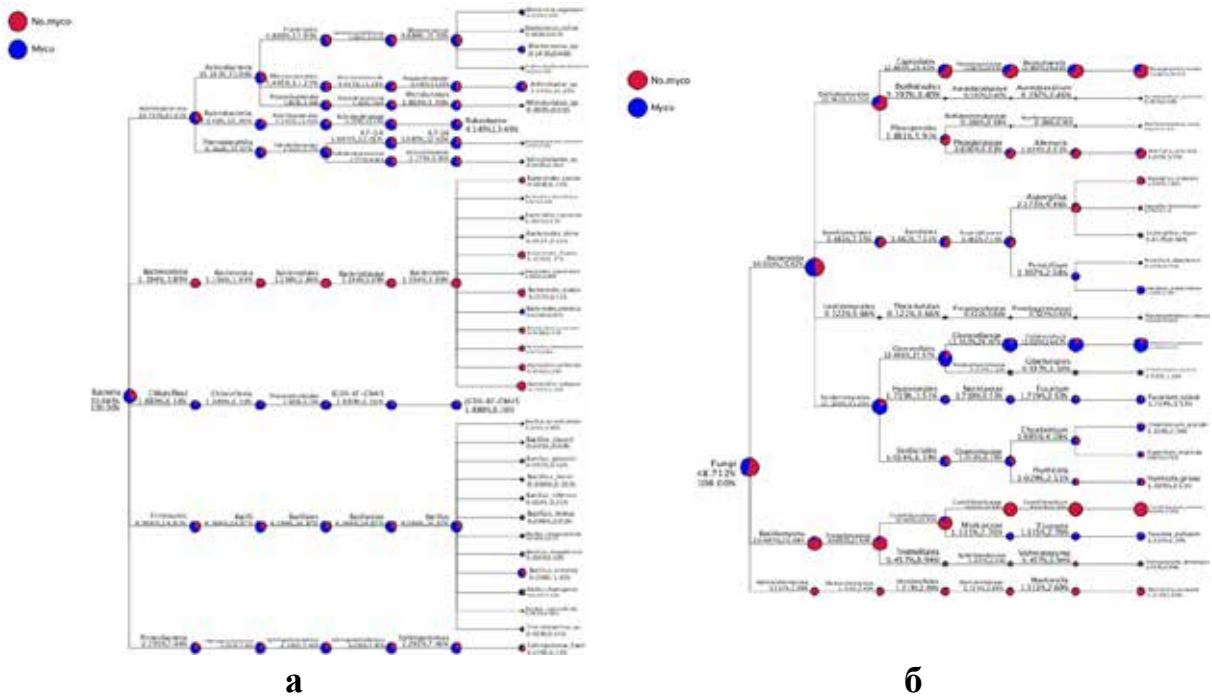


Рис. 5. Дерево таксономії групи для бактерій (а) і грибів (б)

Різні кольори представляють різні таксономічні ранги. Розміри кіл вказують на відносну чисельність видів. Перше число під таксономічною назвою означає відсоток у всьому таксоні, а друге число – відсоток у вибраному таксоні

зокрема протеїнів, активація важливих ферментів, необхідних для метаболізму енергії та жирних кислот, формування в рослині біологічно активних сполук проти ураження хворобами та шкідниками (фітоалексинів, глутатіону).

Бактеріальний тип (філіум) *Gemmatimonadetes*, кількість видів якого збільшилась у ґрунті з присутністю *Vitasergia svidasoma* містить представника, здатного до фототрофії *Gemmatimonas groenlandica* sp., завдяки наявності бактеріохлорофілу. Однак, нині виділено лише один штам хлорофототрофних бактерій *Gemmatimonas* (*G.*) *groenlandica* sp., які мають розширений арсенал механізмів для боротьби з окислювальним стресом, і цей вид збільшив відсоток своєї присутності у ґрунтах з *Vitasergia svidasoma*.

Verrucomicrobiota – тип бактерій, які не втратили відсотку своєї присутності у мікробіомі, обробленому *Vitasergia svidasoma*, до яких відносять в основному некультивовані форми. Вільноживучі бактерії, що зустрічаються при розмноженні фітопланктону, спеціалізуються на споживанні цукрів мікробіодоростей, що містять фукозу та рамнозу. Таким чином, секвестрація органічної речовини фітопланктону за допомогою цукрів метилпентози, ймовірно, залежить від активності спеціалізованих популяцій *Verrucomicrobiota*. Цей філіум займає у ґрунті від 1 до 10% і має важливе екологічне значення для симбіозу з мікробіодоростями та фітопланктоном.

У дослідженнях особливу увагу приділяли мікобіому ризосфери горіха, оскільки внесення мікоризоутворюючих видів спричинило вплив на ризосферну мікобіоту та чисельність і видовий склад ендоефітів. Спостерігали зниження рівня дейтеромицетів-патогенів, збільшувалась кількість мікоризоутворювачів та видів, які сприяють процесам гумусоутворення. Повністю були витіснені з ризосфери види, які спричиняли хвороби стовбурових гнилей.

Щодо зміни у структурі мікобіому, слід відзначити таке: збільшився відсоток видів філіуму *Ascomycota*. Вони виконують ключові функції в наземних екосистемах. Нині обстежені 235 ґрунтів з усього світу. Висновки вчених вказують на те, що 83 філотипи *Ascomycota* (<0,1% вилучених грибів), домінують у ґрунтах у всьому світі (Egidi et al., 2019). Були визначені закономірності та екологічні чинники появи домінуючих таксонів грибів у ґрунті та представлена карта їх розподілу в ґрунтах у всьому світі. Порівняння їх повного геному з *Basidiomycota* вказало на велику кількість генів, пов'язаних зі стресостійкістю, що свідчить про можливість більш ефективної колонізації в широкому діапазоні середовищ.

Ці дослідження підтверджують наші висновки і є прогресивними у розумінні екології грибів і мають значення для розробки стратегій їх збереження та функцій екосистеми, які вони забезпечують. *Tuber melanosporum* належить до *Ascomycota*, а його ендоефіт *Vitasergia svidasoma* є одним з агентів стресостійкості.

Порівняння повного геному дало можливість пояснити причину домінування філотипу *Ascomycota* порівняно з філотипом *Basidiomycota*. За допомогою аналізу Random Forest були ідентифіковані функціо-

нальні гени з доступних секвенованих цілих геномів, які характеризують (1) домінантні таксони *Ascomycota* порівняно з іншими недомінантними таксонами *Ascomycota* та (2) домінантні таксони *Ascomycota* порівняно з іншими недомінантними таксонами грибів із типу *Basidiomycota*.

Дослідники (Egidi et al., 2019) знайшли низку екологічно значущих геномних ознак, які суттєво відрізнялися у домінантних та недомінантних членів спільноти ґрунтових грибів. Після стандартизації вмісту генів відповідно до розміру геному значно більша кількість генів пов'язана з живленням (наприклад, транспортер фосфату, іммобілізація азоту) та метаболізмом вуглеводів (наприклад, CAZymes, пов'язані з деградацією складних цукрів, синтезом полісахаридів і підвищенням каталітичної ефективності), характеризують домінуючу *Ascomycota*.

Крім того, у порівнянні з *Basidiomycota*, представники *Ascomycota* демонстрували значно вищу частоту геномних ознак, пов'язаних як зі стресостійкістю, так і з конкурентними властивостями, такими як відкладення меланіну та стійкість до антибіотиків і їх продукування.

Отже, введення в екосистему ґрунтів роду *Vitasergia svidasoma* збільшує відсоток домінування таксонів *Ascomycota*, що забезпечує активну деградацію складних цукрів, синтез полісахаридів і підвищення каталітичної ефективності ґрунтових процесів, підвищує стресостійкість середовища та системи «рослина-гриб-бактерія» за рахунок акумуляції меланіну, а також забезпечує синтез антибіотиків та формування стійкості до них.

Відповідно до результатів таксономічної анотації, ми сформували гістограму розподілу відносної величини таксонів грибів, де побачили таксони з більшою кількістю та їх часткою на різних рівнях класифікації кожної вибірки. Таким чином ілюструється відносна кількість таксонів у типі. На рис. 6 зображено ефект домінування видів відділу *Ascomycota* при застосуванні *Vitasergia svidasoma* у екосистемі ґрунту горіхового саду.

Наступний етап таксономічної характеристики – це встановлення альфа-різноманітності, яка відображає багатство та різноманітність мікробних спільнот у кожній вибірці (табл. 1, 2).

Результати значень індексу Шеннона свідчать про збільшення біорізноманіття видів бактерій у 12,2 раза, грибів – у 8,7 раза у ґрунті, де як підживлення використовували гноївку тварин та фекалії людей (надлишкова органіка). Вважається, що збільшення біорізноманіття може лише позитивно впливати на екосистему.

Таблиця 1

Індекси альфа-різноманітності для ґрунту з надлишковим внесенням органічної речовини

Назва	Бактерії	Гриби
види	5862	3710
Коефіцієнт Шеннона	9,579	8,898
Коефіцієнт Сімпсона	0,995	0,991
Cha 1	7822,054	4045,752
ACE	8090,794	4084,007
Проективне покриття видів	0,981	0,994
Вільне PD	447,921	281,282

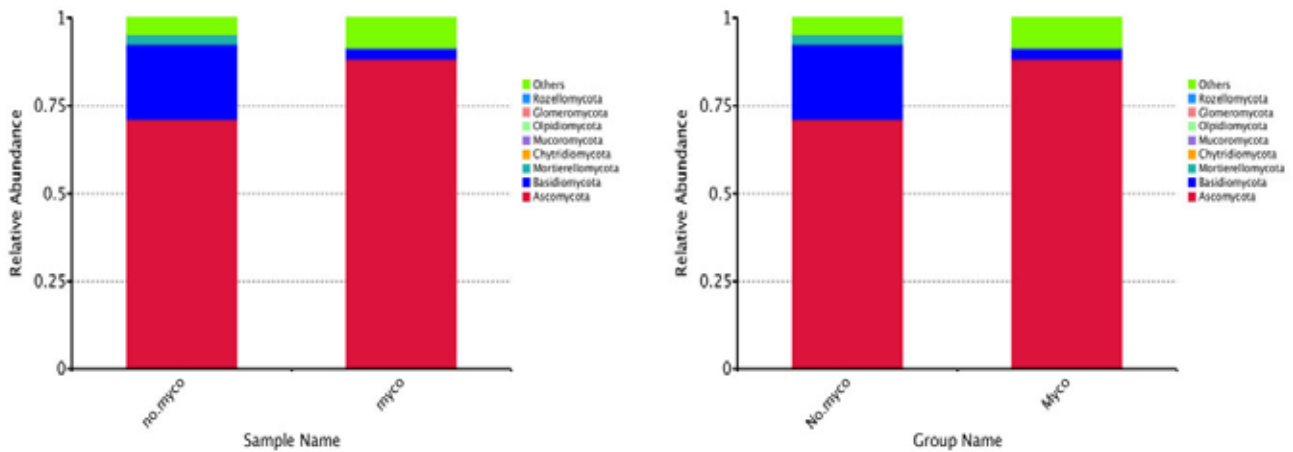


Рис. 6. Відносна кількість таксонів у типі для грибів

Вісь Y представляє «відносне достаток», а вісь X «назва зразків». «Інші» – це загальна відносна кількість інших видів, крім 10, які займають ключові положення у досліджуваній екосистемі ґрунту. В результаті ми можемо побачити 10 видів, які в обраному зразку несуть найбільше інформативне навантаження щодо видового складу та формують спільноту досліджуваної екосистемі ґрунту

Таблиця 2

Індекси альфа- різноманітності для ґрунту, обробленого препаратом «Міковітал»

Назва	Бактерії	Гриби
види	482	427
Коефіцієнт Шенона	4,497	4,468
Коефіцієнт Сімпсона	0,897	0,898
Cha 1	502,812	444,333
ACE	497,259	445,814
Проективне покриття видів	1,000	1,000
Вільне PD	84,350	73,500

Наші дослідження мікроорганізмів (бактерій та грибів) свідчать про протилежне: ефективними для живлення рослин можуть бути лише симбіотрофні мікроорганізми та їх асоціації. Зафіксовано вплив на екосистему ризосфери ґрунту ендоефіту *Vitasergia svidasoma*, який було використано як регулятор метагеному ґрунту, що впливає на збільшення в ризосфері корисних симбіотрофних аскоміцетів та пригнічує ріст патогенів та інших груп мікроорганізмів.

Коефіцієнт Сімпсона, що вказує на різноманітність спільноти, становить для бактерій 0,995 у ґрунті з надлишковою органікою та 0,897 у ґрунті, обробленім препаратом «Міковітал». Для грибів – відповідно 0,991 та 0,898. Варто зауважити, що зменшення кількості таксонів грибів та бактерій у ґрунті після застосування

препарату не впливало на значення коефіцієнта Сімпсона, оскільки зменшувалась кількість патогенних видів. Цей коефіцієнт залишався доволі високим як для бактерій (0,897), так і для грибів (0,898). Рясність мікробної спільноти та кількість унікальних видів також є вищими у ґрунті, обробленому препаратом «Міковітал».

Висновки. Вперше досліджено метагеному ґрунту ризосфери горіха волоського, обробленого препаратом на основі ендоефітного гриба *Vitasergia svidasoma*, виділеного з чорного трюфеля. Аналіз таксономічної структури мікобіому на рівні філумів грибів у ґрунті без застосування мікоризного препарату та з його застосуванням показав, що найбільш представницьким серед грибів був відділ *Ascomycota*. Введення в екосистему ґрунту *Vitasergia svidasoma* призвело до збільшення представників цього відділу з 41,01% до 93,17%, що сприяло активним процесам стимуляції мікоризоутворення в системі «бактерія-гриб-рослина». Аналіз таксономічної структури мікобіому на рівні філумів бактерій показав зниження патогенних видів з 87% до 7%. Збільшення біорізноманіття у ризосфері рослин може бути ефективним лише у випадку розвитку симбіотрофних мікроорганізмів та їх асоціацій. Це дає можливість розробляти біотехнології, які будуть стимулювати формування симбіотрофних асоціацій в ґрунті при внесенні органіки і обґрунтовано застосовувати бактеріальні та грибні препарати в агро-екосистемах.

Бібліографічні посилання:

1. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., & Lipman, D.J. (1990). Basic local alignment search tool. *J Mol Biol*, 215(3), 403–410. doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2
2. Asnicar, F., Weingart, G., Tickle, T.L., Huttenhower, C., & Segata, N. (2015). Compact graphical representation of phylogenetic data and metadata with GraPhlAn. *PeerJ*, 3, e1029. doi: 10.7717/peerj.1029. PMID: 26157614; PMCID: PMC4476132.
3. Bahram, M., Hildebrand, F., Forslund, S.K., Anderson, J.L., Soudzilovskaia, N.A., Bodegom, P.M., Bengtsson-Palme, J., Anslan, S., Coelho, L.P., Harend, H., Huerta-Cepas, J., Medema, M.H., Maltz, M.R., Mundra S., Olsson, P.A., Pent M., Polme, S., Sunagawa, S., Ryberg, M., Tedersoo, L., & Bork, P. (2018). Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature*, 560(7717), 233–237. doi: 10.1038/s41586-018-0386-6

4. Baldrian, P. (2019). The known and the unknown in soil microbial ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 95(2), fiz005. doi: 10.1093/femsec/fiz005
5. Bokulich, N.A., Subramanian, S., Faith, J., Gevers, D., Gordon, J.I., Knight, R., Mills, D.A., & Caporaso J.G. (2013). Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature methods*, 10.1, 57–59. doi: 10.1038/nmeth.2276
6. Bulgarelli, D., Garrido-Oter, R., Munch, P. C., Weiman, A., Droge, J., Pan, Y., McHardy, A.C., & Schulze-Lefert, P. (2015). Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley. *Cell Host Microbe*, 17(3), 392–403. doi: 10.1016/j.chom.2015.01.011
7. Bulgarelli, D., Rott, M., Schlaeppi, K., Van Themaat, E.V.L., Ahmadinejad, N., Assenza, F., Rauf, P., Huettel, B., Reinhardt, R., Schmelzer, E., Peplies, J., Gloeckner, F.O., Amann, R., Eickhorst, T., & Schulze-Lefert P. (2012). Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, 488, 91–95. doi: 10.1038/nature11336
8. Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Peña, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., Huttley, G.A., Kelley, S.T., Knights, D., Koenig, J.E., Ley, R.E., Lozupone, C.A., McDonald, D., Muegge, B.D., Pirrung, M., Reeder, J., Sevinsky, J.R., Turnbaugh, P.J., Walters, W.A., Widmann, J., Yatsunencko, T., Zaneveld, J., & Knight, R. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nat Methods*, 7(5), 335–336. doi: 10.1038/nmeth.f.303
9. Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., & Knight, R. (2011). Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 108(Suppl 1), 4516–4522. doi: 10.1073/pnas.1000080107
10. Demyanyuk, O.S., Patyka, V.P., Sherstoboeva, O.V., & Bunas, A.A. (2018). Formation of the structure of microbiocenoses of soils agroecosystems depending on trophic and hydrothermic factors. *Biosystems diversity*, 26(2), 103–110. doi: 10.15421/011816
11. Demyanyuk, O., Symochko, L., & Shatsman, D. (2020). Structure and dynamics of soil microbial communities of natural and transformed ecosystems. *Environmental Research, Engineering and Management*, 76(4), 97–105. doi: 10.5755/j01.arem.76.4.23508
12. DeSantis, T.Z.Jr., Hugenholtz, P., Keller, K., Brodie, E.L., Larsen, N., Piceno, Y.M., Phan, R., & Andersen, G.L. (2006). NAST: a multiple sequence alignment server for comparative analysis of 16S rRNA genes. *Nucleic Acids Res*, 34(Web Server issue), 394–399. doi: 10.1093/nar/gkl244
13. Dhiman, M., Sharma, L., Kaushik, P., Singh, A., & Sharma, M.M. (2022). Mycorrhiza: An Ecofriendly Bio-Tool for Better Survival of Plants in Nature. *Sustainability*, 14(16), 10220. doi: 10.3390/su141610220
14. Edgar, R.C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res*, 32(5), 1792–1797. doi: 10.1093/nar/gkh340
15. Edgar, R.C. (2013). UPPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature methods*, 10, 996–998. doi: 10.1038/nmeth.2604
16. Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., & Knight R. (2011). UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 27(16), 2194–2200. doi: 10.1093/bioinformatics/btr381
17. Egidi, E., Delgado-Baquerizo, M., Plett, J.M., Wang, J., Eldridge, D.J., Bardgett, R.D., Maestre, F.T., & Singh, B.K. (2019). A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide. *Nat Commun*, 10(1), 2369. doi: 10.1038/s41467-019-10373-z
18. Finlay, R.D., Mahmood, S., Rosenstock, N., Bolou-Bi, E.B., Kohler, S.J., Fahad, Z., Rosling, A., Wallander, H., Belyazid, S., Bishop, K., & Lian, B. (2020). Reviews and syntheses: Biological weathering and its consequences at different spatial levels – from nanoscale to global scale. *Biogeosciences*, 17, 1507–1533. doi: 10.5194/bg-17-1507-2020
19. Garcia, K., Doidy, J., Zimmermann, S.D., Wipf, D., & Courty, P.E. (2016). Take a trip through the plant and fungal transportome of mycorrhiza. *Trends Plant Sci*, 21, 937–950. doi: 10.1016/j.tplants.2016.07.010
20. Gregory, P.J. (2022). RUSSELL REVIEW. Are plant roots only “in” soil or are they “of” it? Roots, soil formation and function. *European Journal of Soil Science*, 73(1), e13219. doi: 10.1111/ejss.13219
21. Haas, B.J., Gevers, D., Earl, A.M., Feldgarden, M., Ward, D.V., Giannoukos, G., Ciulla, D., Tabbaa, D., Highlander, S.K., Sodergren, E., Methe, B., DeSantis, T.Z., Petrosino, J.F., Knight, R., & Birren, B.W. (2011). Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. *Genome research*, 21(3), 494–504. doi: 10.1101/gr.112730.110
22. Hess, M., Sczyrba, A., Egan, R., Kim, T.W., Chokhawala, H., Schroth, G., Luo, S., Clark, D.S., Chen, F., Zhang, T., Mackie, R.I., Pennacchio, L.A., Tringe, S.G., Visel, A., Woyke, T., Wang, Z., & Rubin, E.M. (2011). Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow rumen. *Science*, 331(6016), 463–467. doi: 10.1126/science.1200387
23. IPBES (2019). Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. S. Díaz, J. Settele, E. S. Brondizio, H. T. Ngo, M. Guèze, J. Agard, A. Arneth, P. Balvanera, K. A. Brauman, S. H. M. Butchart, K. M. A. Chan, L. A. Garibaldi, K. Ichii, J. Liu, S. M. Subramanian, G. F. Midgley, P. Miloslavich, Z. Molnár, D. Obura, A. Pfaff, S. Polasky, A. Purvis, J. Razaque, B. Reyers, R. Roy Chowdhury, Y. J. Shin, I. J. Visseren-Hamakers, K. J. Willis, and C. N. Zayas (eds.). IPBES secretariat, Bonn, Germany. 56 p. doi: 10.5281/zenodo.3553579
24. Jacoby, R., Peukert, M., Succurro, A., Koprivova, A., & Kopriva, S. (2017). The Role of Soil Microorganisms in Plant Mineral Nutrition-Current Knowledge and Future Directions. *Front. Plant Sci*, 8, 1617. doi: 10.3389/fpls.2017.01617
25. Kamel, L., Keller-Pearson, M., Roux, C., & Ane, J.M. (2017). Biology and evolution of arbuscular mycorrhizal symbiosis in the light of genomics. *New Phytol*, 213, 531–536. doi: 10.1111/nph.14263

26. Leake, J.R., & Read, D.J. (2017). Mycorrhizal symbioses and pedogenesis throughout earth's history. In: Johnson N.C., Gehring C.A., Jansa J. (eds). Mycorrhizal mediation of soil: fertility, structure, and carbon storage. Elsevier, Amsterdam, 9–33. doi: 10.1016/B978-0-12-804312-7.00002-4
27. Locey, K.J., & Lennon, J.T. (2016). Scaling laws predict global microbial diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 113(21), 5970–5975. doi: 10.1073/pnas.152129111
28. Magoc, T., & Salzberg, S.L. (2011). FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21), 2957–2963. doi: 10.1093/bioinformatics/btr507
29. Malgioglio, G., Rizzo, G.F., Nigro, S., Lefebvre du Prey, V., Herforth-Rahme, J., Catara, V., & Branca, F. (2022). Plant-Microbe Interaction in Sustainable Agriculture: The Factors That May Influence the Efficacy of PGPM Application. *Sustainability*, 14(4), 2253. doi: 10.3390/su14042253
30. Moenne-Loccoz, Y., Mavingui, P., Combes, C., Normand, P., Steinberg, C. (2015). Microorganisms and Biotic Interactions. In: Bertrand, J.C., Caumette, P., Lebaron, P., Matheron, R., Normand, P., & Sime-Ngando, T. (eds). *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications*. Springer, Dordrecht. doi: 10.1007/978-94-017-9118-2_11
31. Nazarovets, U.R., & Oliferchuk, V.P. (2013). Mikotrofnist deiakykh trav'ianykh roslyn na gruntakh Podorozhnenskoj sirchanoi kopalni [Mycotrophicity of some herbaceous plants on the soils of the Podorozhnensk sulfur mine]. *Naukovyi visnyk NLTU Ukrainy*, 23.6, 174–181. (in Ukrainian).
32. Oliferchuk, V., Kendzora, N., Shukel, I., Samarska, M., & Olejniuk-Puchniak, O. (2023). The role of V-strategist endophytes in stimulating the formation of mycorrhizal interactions and soil regeneration, BOOK TITLE: Symbiosis in Nature, 269–2023. doi: 10.5772/intechopen.109912
33. Oliferchuk, V.P., & Oliferchuk, S.P. (2016). Patent 111174 (19) UA (51) MPK A01 N 63/04(2006. 01) C12N 1/14 (2006.01). Kompleksnyi biolohichno aktyvnyi preparat dlia rehuliatcii rozvytku ta rostu roslyn na osnovi sporovoi suspenzii hrybiv-mikoryzoutvoriuvachiv "Mikovital" [A complex biologically active preparation for regulating the development and growth of plants based on a spore suspension of mycorrhizal fungi "Mykovital"]. zaiavl. 26.02.2016, opubl. 10.11.2016, Biul. № 21. (in Ukrainian).
34. Oliferchuk, V., & Shukel, I. (2022). Struktura kompleksiv mikromitsetiv u ekotopakh sirchanykh kar'eriv zakhidnoho rehionu Ukrainy [The structure of micromycetes complexes in the ecotopes of sulfur quarries in the western region of Ukraine]. *Zbalansovane pryrodokorystuvannia*, 4, 129–140 (in Ukrainian). doi: 10.33730/2310-4678.4.2022.275849
35. Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glockner, F.O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res*, 41(Database issue), 590–596. doi: 10.1093/nar/gks1219
36. Smith, S.E., & Smith, F.A. (2011). Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annu. Rev. Plant Biol*, 62, 227–250. doi: 10.1146/annurev-arplant-042110-103846
37. Turner, T.R., Ramakrishnan, K., Walshaw, J., Heavens, D., Alston, M., Swarbreck, D., Osbourn, A., Grant, A., & Poole, P.S. (2013). Comparative metatranscriptomics reveals kingdom level changes in the rhizosphere microbiome of plants. *ISME J*, 7, 2248–2258. doi: 10.1038/ismej.2013.119
38. Udvardi, M., & Poole, P.S. (2013). Transport and metabolism in legume-rhizobia symbioses. *Annu. Rev. Plant Biol*, 64, 781–805. doi: 10.1146/annurev-arplant-050312-120235
39. Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., & Cole, J.R. (2007). Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl Environ Microbiol*, 73(16), 5261–5267. doi: 10.1128/AEM.00062-07
40. Youssef, N., Sheik, C.S., Krumholz, L.R., Najjar, F.Z., Roe, B.A., & Elshahed, M.S. (2009). Comparison of species richness estimates obtained using nearly complete fragments and simulated pyrosequencing-generated fragments in 16S rRNA gene-based environmental surveys. *Applied and environmental microbiology*, 75(16), 5227–5236. doi: 10.1128/AEM.00592-09
41. Zgadzaj, R., Garrido-Oter, R., Jensen, D.B., Koprivova, A., Schulze-Lefert, P., & Radutoiu, S. (2016). Root nodule symbiosis in *Lotus japonicus* drives the establishment of distinctive rhizosphere, root, and nodule bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 113, 7996–8005. doi: 10.1073/pnas.1616564113

Oliferchuk V. P., PhD (Biological Sciences), Associate Professor, National Forestry University of Ukraine, Lviv, Ukraine

Fedorovich D. V., PhD Doctor (Biological Sciences), Professor Leading Researcher, Department of Molecular Biology and Biotechnology, Institute of Cell Biology of the National Academy of Sciences of Ukraine, Lviv, Ukraine

Samborskyi M. V., PhD, Leading Specialist in Bioinformatics, Explozhen LLC laboratory of Ukraine, Lviv, Ukraine

Samarska M. I., PhD student, National Forestry University of Ukraine, Lviv, Ukraine

The effect on soil metagenom caused by the new for the science endophyte species *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106) extracted from black truffle

The articles provides the results of the research of soil metagenome of nuciferous crops nursery, where the plant treatment was carried out with yeast fungus of family Debariomycetaceae – *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106), which is an active agent of Mycovital preparation. By applying amplicon sequencing of 16S pPHK and ITS2, the composition and structure of bacterial and mycelial community in the analyzed untreated soil samples were studied. Operational taxonomic units (OTU) were obtained by clustering with identity of 97% on the effective sample tags which were detected. To demonstrate the microorganism composition and information about their number and species diversity in the samples, an interactive webpage Heatmap was created with a presentation of taxonomic annotations which correspond to OTU. The results prove that the main functional genes of the bacteria in the plant nursery soils belong to three main divisions of Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes. Proteobacteria division was widely presented with *Echerichia* genus in the soil untreated with Mycovital in the number of above 97%. After the treatment with species of *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB

F-100106) their number reduced to 7%. In the walnut rhizosphere microbiome, 20 types of bacteria, including 83 genera, and 6 types of fungi, including 100 genera of fungi, as well as unclassified sequences were identified, the relative share of which in the microbiome was 3.04–7.86%.

The analysis of taxonomic structure of the microbiome on the phyla level showed that bacteria were an absolute dominant, i.e. 38.7–100%. Among fungal divisions, Ascomycota (41.01–93.17%) is an absolute dominant in both ecotopes. Moreover, there were representatives from Basidiomycota (2.82–6.40%) and Monerelomycota (0.82–0.41%) divisions. In Ascomycota division, comprising the greatest number of mycorrhizal fungi, their number increases after treatment with Mycovital, while the number of micromycetes-pathogens, toxin-producers and rot pathogens decreased. It was established that the rhizospheric soil microbiome became more diverse under conditions of inoculation of plants with species *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106).

Key words: soil metagenome, *Vitasergia svidasoma* VS 1223 (IMB F-100106), bioregulation, endophyte, symbiosis.