

**М. В. Патика<sup>1</sup>, Ю. П. Борко<sup>2</sup>, О. А. Цюк<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13,

<sup>2</sup> ННЦ «Інститут землеробства НААН України»,  
08162, Київська обл., Києво-Святошинський р-н., смт. Чабани,  
вул. Машинобудівників, 2-Б,

## **ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ РІЗНОМАНІТТЯ ЕУБАКТЕРІАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ РИЗОСФЕРИ БУРЯКА ЦУКРОВОГО (*BETA VULGARIS*) ПРИ ЗАСТОСУВАННІ РІЗНИХ АГРОЗАХОДІВ**

*У статті проаналізовано особливості формування кількісного складу, різноманіття морфотипів, структуру розподілу домінуючих форм еубактеріального комплексу в ризосфері буряка цукрового та визначено їх екологічні індекси різноманіття. Вперше в умовах Лісостепу України методом піросеквенування виявлено та оцінено метагеном прокариотів чорнозему типового, значну частку яких становили форми, що не детектуються класичними мікробіологічними методами. Встановлено, що застосування біологічної та екологічної систем землеробства обумовлює високий рівень різноманіття мікроорганізмів, а промислова система призводить до збіднення їх поліморфізму.*

*Ключові слова: прокариоти, мікроорганізми, метагеном, піросеквенування, різноманіття, агрозаходи, чорнозем типовий, ризосфера, буряк цукровий.*

Важливою умовою, що обумовлює збереження та екологічну рівновагу ґрунтових агроєкосистем, є збалансованість функціонування мікробного комплексу ґрунту [3]. Адже чисельність, структурна організація та функціональне різноманіття мікроорганізмів є основним джерелом при формуванні ґрунтового покриву, його структури і родючості [7, 10].

Кожний тип ґрунту має певне видове багатство, яке вимірюється кількістю функціонуючих у ньому мікробних популяцій різних видів [5, 15]. При цьому визначальну роль у ценозі відіграють види, які є домінантами. Кількість домінантів є одним із репрезентативних показників таксономічної структури мікробних комплексів, які тісно пов'язані із сформованим типом агроєкосистеми [9]. Крім того, кількісне та якісне різноманіття ґрунтових мікроорганізмів, у свою чергу, обумовлює буферність щодо змін гомеостазу екосистеми ще на початкових етапах впливу антропогенного навантаження, тому використовується як діагностичний показник при оцінці екологічного стану ґрунту та дає уявлення про спрямованість біологічних процесів, які направлені на відновлення балансу в агроєкосистемі [4, 7, 9].

Відомо, що за допомогою класичних методів дослідження мікробіоти можливо врахувати тільки ті мікроорганізми, які культивуються на елективних поживних середовищах, що становить від 0,1 до 10 % мікробного фонду ґрунту [4, 13]. Молекулярно-біологічні методи аналізу, в т.ч. метод піросеквенування, дозволяють у більшому ступені виявляти реальне таксономічне різноманіття компонентів ґрунтового мікробного комплексу, незалежно від можливості їх культивування. Тому дослідження якісного складу мікробних комплексів антропогенно змінених агроєкосистем з

поєднаним використанням класичних і молекулярно-біологічних методів аналізу є необхідним завданням для розширення розуміння механізмів взаємодії ґрунтової мікробіоти, характеру впливу на біологічні процеси ґрунту факторів навколишнього середовища, ґрунтових властивостей, агротехнічних заходів та управління ґрунтовими процесами з метою створення сталих і високопродуктивних агроєкосистем.

Зважаючи на актуальність проблеми, метою роботи було визначити кількісний, якісний склад і таксономічну структуру прокаріотного комплексу чорнозему, типового у ризосфері буряка цукрового при застосуванні різних агрозаходів, та провести порівняльну характеристику результатів класичних мікробіологічних та молекулярно-біологічних методів аналізу мікробіоти ґрунту.

**Матеріали і методи.** Дослідження прокаріотного комплексу ризосфери буряка цукрового (*Beta vulgaris*) проводили на базі стаціонарного польового дослідження кафедри землеробства та гербології НУБіП України у зоні Лісостепу в зерно-буряковій сівоzmіні у період активної вегетації культури (фаза змикання листків у міжрядді).

Схемою дослідження передбачено застосування трьох систем землеробства (промислової, екологічної та біологічної) на фоні поверхневого та диференційованого обробітків ґрунту. Промислова система землеробства (контроль) передбачала внесення на 1 га сівоzmінної площі 12 т гною та мінеральних добрив у дозі  $N_{92}P_{100}K_{108}$  на фоні інтенсивного застосування хімічних засобів захисту рослин. За екологічної системи вносили 24 т/га органічних добрив і мінеральні добрива у дозі  $N_{46}P_{49}K_{55}$ , застосовували хімічні та біологічні препарати для захисту рослин за критерієм еколого-економічного порогу шкодочинності шкідливих організмів. Біологічна система землеробства передбачала внесення 24 т/га органічних добрив (12 т гною, 6 т нетоварної частини врожаю, 6 т маси післяжнивних сидератів) та використання біологічних засобів захисту рослин [11].

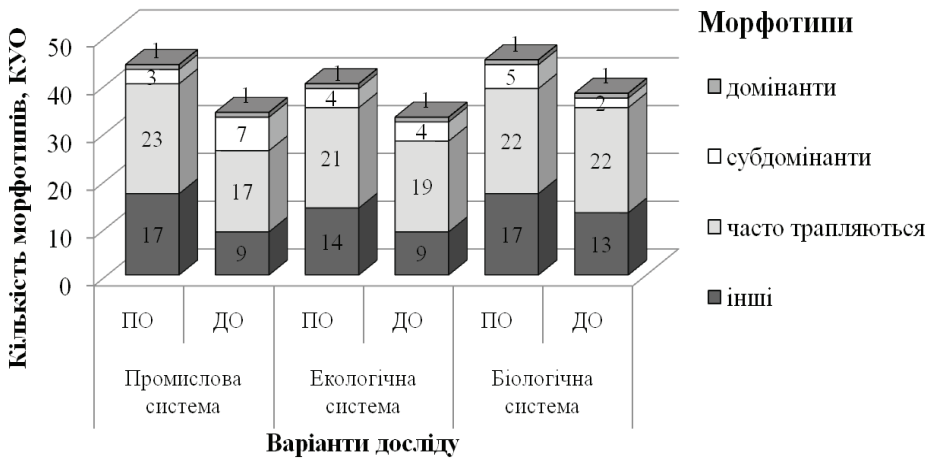
Чисельність бактерій визначали за методом посіву ґрунтової суспензії на агаризоване поживне середовище ГПА [2]. Вивчення структури якісного складу ґрунтових мікроорганізмів проводили відповідно до загальноприйнятих методик за морфологічно-культуральними властивостями [6]. Морфологію виділених ізолятів домінуючих форм мікроорганізмів досліджували за допомогою мікроскопіювання фіксованих препаратів [12]. Різноманіття мікробних комплексів ґрунту оцінювали за екологічними індексами Шеннона і Сімпсона [8]. Для аналізу метагеному і таксономічної структури прокаріотного комплексу чорнозему типового проводили виділення нуклеїнових кислот із ґрунтових мікроорганізмів [1]. У подальшому використовували метод піросеквенування, який включав такі етапи: створення бібліотеки з флуоресцентними праймерами, подвійну очистку ПЛР-продукту, емульсійну ПЛР, піросеквенування, аналіз нуклеотидних послідовностей, визначення таксономічної структури мікробних комплексів та їх порівняльний аналіз [14, 16]. Обробку результатів досліджень проводили у Ms Excel та за допомогою програмного модуля QIIME версії 1.7.0 [14].

**Результати і обговорення.** Результати досліджень кількісного складу бактеріальної мікробіоти показали, що чисельність прокаріотів у період

активної вегетації буряка цукрового становила від 11,70 млн КУО / г ґрунту за промислової системи землеробства та диференційованого обробітку ґрунту до 16,08 млн за біологічної системи і поверхневого обробітку. При цьому значний вплив на формування чисельного складу прокаріотів мали способи обробітку ґрунту: за поверхневого обробітку чисельність бактерій була вищою на 34,4 %, ніж за диференційованого; тоді як вплив систем землеробства був не суттєвим (2,4-2,6 %) – у межах статистичних коливань за різними варіантами досліді.

Аналіз якісного складу прокаріотів чорнозему типового на основі опису їх морфолого-культуральних властивостей показав, що досліджувані мікробні комплекси відрізняються між собою як за кількістю виявлених морфотипів, так і за структурою розподілу домінуючих форм. Так, кількість виявлених морфотипів бактерій становила 33-45 КУО (рис. 1) і найвищою була за біологічної системи землеробства – 45 КУО на фоні поверхневого обробітку ґрунту і 38 – на фоні диференційованого. Загалом, застосування біологічної системи землеробства сприяло збільшенню різноманіття активних форм морфотипів бактерій на 6,4-13,7 % порівняно з екологічною та промисловою системами, а поверхневого обробітку – на 22,9 % порівняно з диференційованим.

У структурі бактеріального комплексу ризосфери буряка цукрового найбільшу частку виявлених морфотипів склали представники ґрунтового мікробіому, які «часто трапляються» – 48,9–57,9 % (рис. 1).



**Рис. 1. Структура виявлених морфотипів прокаріотів ризосфери буряка цукрового при застосуванні різних агрозаходів (ПО – поверхневий обробіток, ДО – диференційований обробіток)**

Частка домінантів і субдомінантів була значно меншою – 2,2-3,0 % та 5,3-20,6 % відповідно. Серед виявлених морфотипів значну частку (26,5–38,6 %) займали випадкові види мікробіоти, віднесені до категорії «інші», які не належать до постійних представників мікробного комплексу ґрунту та потрапляють лише зі значною кількістю легкозасвоюваних поживних речовин. При цьому кількість морфотипів, віднесених до категорій «часто трапляються» та «інші», зростала у найбільшій мірі при застосуванні промислової та біологічної систем землеробства на фоні поверхневого обробітку ґрунту, тоді як розподіл домінуючих представників прокаріотного комплексу чорнозему типового був без змін (по 1 КУО).

Встановлено, що домінуючі форми прокариотів за морфолого-фізіологічними ознаками належали до бактерій родів *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus* та актиноміцетів *Streptomyces* (рис. 2).

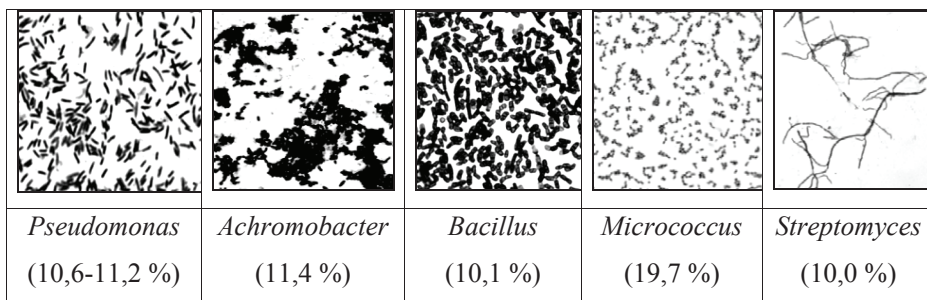


Рис. 2. Домінуючі морфотипи прокариотів (збільшення x100)

Так, представники роду *Pseudomonas* були абсолютними домінантами у ризосфері буряка цукрового при застосуванні промислової системи землеробства на фоні поверхневого та диференційованого обробітків ґрунту з насиченістю морфотипів 10,6 і 11,2 % відповідно (рис. 2). Представники родів *Achromobacter* виявлені за екологічної системи та диференційованого обробітку (з насиченістю 11,4 %), *Bacillus* – за промислової системи та диференційованого обробітку (10,1 %), *Micrococcus* – за біологічної системи та диференційованого обробітку (19,7 %), *Streptomyces* – за біологічної системи та поверхневого обробітку (10,0 %).

Активний розвиток і удосконалення молекулярно-біологічних методів досліджень суттєво розширили можливості вивчення різноманіття біоти. Так, застосування методу піросеквенування дозволяє виявити реальне таксономічне різноманіття прокариотів ґрунту, не залежно від можливості їх культивування на поживних середовищах.

Аналіз метагеному прокариотів методом піросеквенування дав змогу виявити 367 операційних таксономічних одиниць: з них – 64,6 % ідентифіковано на рівні родини, 30,8 % – на рівні роду. Серед виявлених таксонів прокариотів кількість некласифікованих представників бактерій становила 21,8 %, архей – 0,5 %.

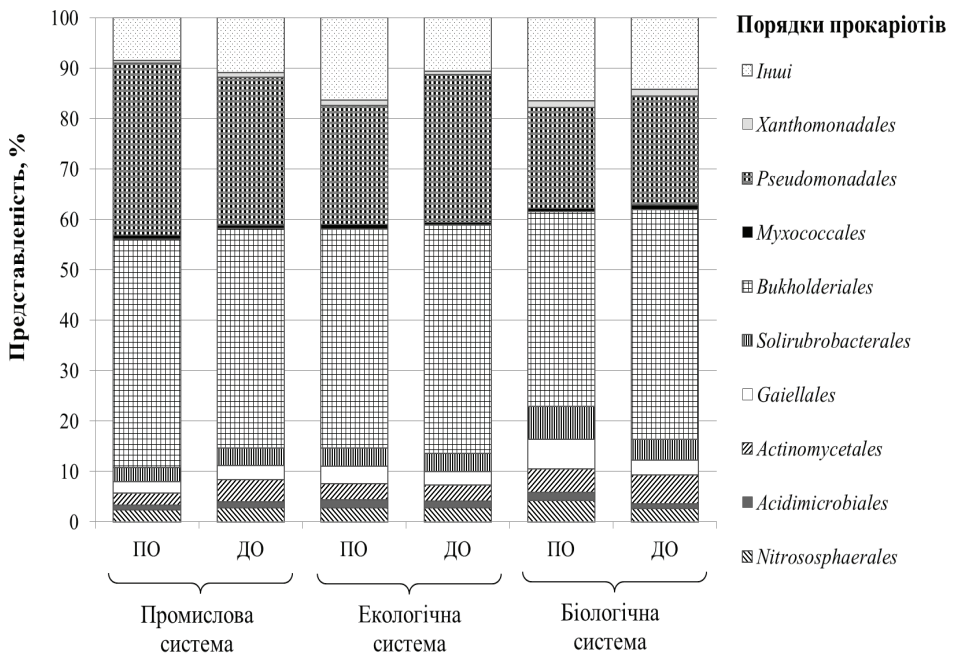
Кількість операційних таксономічних одиниць залежно від варіанту дослідження варіювала у межах 148–187 шт. і найбільшою була за біологічної системи землеробства. Загальна кількість виявлених видів (у тому числі неідентифікованих) варіювала у межах 306–441 шт. При цьому найбільшим видовим різноманіттям прокариотів характеризувалася біологічна система землеробства, тоді як за екологічної системи видове різноманіття було меншим на 14,9 %, а промислової – на 29,8 %.

Аналіз таксономічної структури мікробного метагеному ризосфери буряка цукрового на рівні домену показав, що абсолютну більшість мікробіоти складали бактерії. Загалом у досліджуваних зразках ґрунту було виявлено представників 25 бактеріальних філ: домінуючі *Proteobacteria* (65,7–83,6 %), *Actinobacteria* (9,3–12,5 %), субдомінуючі *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes*, *Firmicutes* (0,6–2,3 %), *Armatimonadetes*, *BRC1*, *Bacteroidetes*, *Chlamydiae*, *Cyanobacteria*, *Elusimicrobia*, *Fusobacteria*, *GAL15*, *Nitrospirae*, *OP3*, *Planctomycetes*, *SRI*, *TM6*, *TM7*,

*Verrucomicrobia*, *WS3*, *WS4*, *WYO*, а також 2 філи архей – субдомінуючий *Crenarchaeota* (2,4–4,2 %) та *Euryarchaeota*.

Дослідження мікробіому на рівні мікробних порядків показало абсолютне домінування *Burkholderiales* (підгрупа  $\beta$ -*Proteobacteria*) з відсотковим вмістом 38,7–45,7 % від загальної кількості виявлених прокариотів та *Pseudomonadales* ( $\gamma$ -*Proteobacteria*) з вмістом – 20,1–31,4 % (рис. 3). До субдомінуючих порядків належали *Solirubrobacterales* (2,8–6,5 %), *Gaiellales* (2,3–5,8 %), *Actinomycetales* (2,4–5,8 %), *Nitrososphaerales* (2,4–4,2 %).

Встановлено, що найбільша частка *Burkholderiales*, що становила 45,5 % від загальної кількості ідентифікованих прокариотів, виявлена при застосуванні біологічної системи землеробства на фоні диференційованого обробітку ґрунту, а *Pseudomonadales*, з відсотковим вмістом 34,1 %, – за промислової системи із поверхневим обробітком. Найменша кількість домінантів виявлена за біологічної системи землеробства та поверхневого обробітку ґрунту. Найбільший вміст субдомінуючої мікробіоти виявлено при застосуванні біологічної системи землеробства на фоні обох обробітків ґрунту (4,2–6,5 %), а найменший – за промислової системи та поверхневого обробітку (2,3–2,8 %).



**Рис. 3.** Метагеном прокариотного комплексу чорнозему типового на рівні порядків (ПО – поверхневий обробіток ґрунту; ДО – диференційований обробіток ґрунту)

На рівні родин найбільш чисельними по кількості атрибутуваних нуклеїнових послідовностей були: *Alcaligenaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Gaiellaceae*, *Nitrososphaeraceae*, *Micrococcaceae*, *Solirubrobacteraceae*, *Pseudonocardioideae*, *Intrasporangiaceae*, *Syntrophobacteraceae*, *Sinobacteraceae* тощо. Причому їх представленість суттєво відрізнялась залежно від варіанта досліду (табл. 1). Так, найбільша кількість нуклеотидних послідовностей родини *Alcaligenaceae*, що становила 44,8 % від

загальної частки ідентифікованих послідовностей прокариотів, була виявлена за промислової системи землеробства з поверхневим обробітком ґрунту та екологічної системи з диференційованим обробітком, а родини *Pseudomonadaceae* (34,1 %) – за промислової системи та поверхневого обробітку. Найменша частка домінуючих родин, що становила 37,9 та 20,1 % відповідно, була виявлена за біологічної системи та поверхневого обробітку. Кількість атрибутованих нуклеїнових послідовностей решти представників родин найвищою була за біологічної системи землеробства, а також при застосуванні поверхневого обробітку ґрунту.

**Таблиця 1**

**Метагеном прокариотного комплексу (на рівні родин) чорнозему типового в агроценозі буряка цукрового за різних агрозаходів**

Родини прокариотів	Промислова система		Екологічна система		Біологічна система	
	ПО	ДО	ПО	ДО	ПО	ДО
Родова представленість прокариотів, %						
<i>Alcaligenaceae</i>	44,8	43,3	43,2	44,8	37,9	44,2
<i>Pseudomonadaceae</i>	34,1	29,4	23,5	29,3	20,1	21,6
<i>Nitrososphaeraceae</i>	2,4	2,7	2,7	2,7	4,2	2,6
<i>Gaiellaceae</i>	2,3	2,7	3,3	2,4	5,7	2,8
<i>Micrococcaceae</i>	0,5	1,0	0,9	0,6	1,0	1,0
<i>Solirubrobacteraceae</i>	0,4	0,8	0,8	0,7	1,0	1,2
<i>Pseudonocardioideaceae</i>	0,2	0,6	0,3	0,3	0,6	0,7
<i>Nocardioideaceae</i>	0,3	0,3	0,1	0,5	0,6	0,6
<i>Syntrophobacteraceae</i>	0,4	0,3	0,4	0,2	0,6	0,6
<i>Comamonadaceae</i>	0,2	0,2	0,1	0,3	0,5	0,8
<i>Sinobacteraceae</i>	0,2	0,4	0,5	0,2	0,8	0,5
Інші	14,2	18,3	24,2	18,0	27,0	23,4

Примітка: ПО – поверхневий обробіток; ДО – диференційований обробіток.

Оцінка різноманіття прокариотного комплексу ризосфери буряка цукрового методами класичної мікробіології та піросеквенування, результати яких у цілому співпадали, показала, що видове багатство мікроорганізмів ризосфери буряка цукрового, за показниками екологічних індексів Шеннона та Сімсона, отриманих методом піросеквенування, було вищим у 3,1-3,6 рази порівняно із результатами методів класичної мікробіології (табл. 2).

**Таблиця 2**

**Екологічні індекси різноманіття Шеннона і Сімсона прокариотів ризосфери буряка за методами класичної мікробіології та піросеквенування**

Система землеробства	Обробіток ґрунту	метод класичної мікробіології		метод піросеквенування	
		Індекси			
		Шеннона	Сімсона	Шеннона	Сімсона
Промислова	ПО	1,21	0,03	3,82	0,77
	ДО	1,37	0,05	4,37	0,81
Екологічна	ПО	1,45	0,04	4,81	0,83
	ДО	1,23	0,05	4,20	0,80
Біологічна	ПО	1,49	0,04	5,36	0,87
	ДО	1,39	0,06	4,88	0,83

Примітка: ПО – поверхневий обробіток, ДО – диференційований обробіток.

Тобто застосування молекулярно-біологічних методів дослідження дає змогу більшою мірою дослідити структуру мікробного різноманіття, переважно, завдяки формам, що не культивуються, але класичні мікробіологічні методи дають уявлення про функціональні особливості тих чи інших представників ґрунтової мікрофлори.

Загалом різноманіття прокаріотів чорнозему типового (за показниками екологічних індексів) було високим, що свідчить про різну функціональну (трофічні зв'язки) та відповідну спрямованість і складність мікробних процесів трансформації органічної речовини у ґрунті. Вплив агрозаходів на видове багатство прокаріотів пов'язаний у тому числі з кількістю, формою та рівнем надходження у ґрунт поживних легкозасвоюваних органічних речовин та кореневих ексудатів рослин, які в основному і обумовлюють розвиток мікробіоти.

Встановлено, що найбільше різноманіття прокаріотів за індексом Шеннона було за біологічної системи землеробства та поверхневого обробітку ґрунту (5,36 та 1,21), найменше – за промислової системи та поверхневого обробітку (3,82 та 1,21). Застосування біологічної системи землеробства та в дещо меншій мірі екологічної системи, за рахунок пріоритетного внесення органічних добрив, порівняно з промисловою, сприяло зростанню поліфункціональності мікроорганізмів, розширенню трофічних взаємозв'язків між складовими мікробного комплексу ґрунту та формуванню різноманіття бактерій. За поверхневого обробітку ґрунту порівняно з диференційованим видове багатство прокаріотів збільшувалося, що пов'язано з акумуляцією легкозасвоюваних поживних речовин у верхньому кореневмісному шарі ґрунту.

Таким чином, аналіз якісного складу прокаріотів класичними та молекулярно-біологічними методами (піросеквенування) аналізу дозволив оцінити таксономічну структуру прокаріотного комплексу ґрунту повною мірою. Встановлено, що систематичне внесення органічних добрив у ґрунт (біологічна система землеробства) сприяє формуванню високого різноманіття прокаріотів у ризосфері буряка цукрового, які визначають процеси трансформації органічних речовин, а пріоритетне внесення мінеральних добрив (промислова система) призводить до зниження видового багатства мікробіоти чорнозему типового.

Проте, саме метагеномний аналіз дозволив виявити реальне таксономічне різноманіття, домінуючі, субдомінуючі і поширені філи прокаріотного угруповання, визначити представників, які неможливо виділити у чисту культуру та ідентифікувати класичними мікробіологічними методами – це так звані некультивовані форми, які склали 22,3 % мікробних угруповань, що є перспективним для подальших досліджень вивчення нових генотипів та функціональних взаємозв'язків між ними та у системі «ґрунт-мікроорганізми-рослина».

**Н. В. Патыка<sup>1</sup>, Ю. П. Борко<sup>2</sup>, А. А. Цюк<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,  
03041, г. Киев, ул. Героев Оборона, 13*

<sup>2</sup> *ННЦ «Институт земледелия НААН Украины»,  
08162, Киевская обл., Киево-Святошинский р-н., с. Чабаны,  
ул. Машиностроителей, 2-Б*

**ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ РАЗНООБРАЗИЯ  
ЕУБАКТЕРИАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА РИЗОСФЕРЫ САХАРНОЙ  
СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS*) ПРИ РАЗЛИЧНЫХ АГРОМЕРОПРИЯТИЯХ**

**Резюме**

В статье проанализированы особенности формирования количественного состава, многообразия морфотипов, структуры распределения доминирующих форм эубактериального комплекса в ризосфере сахарной свеклы и определены их экологические индексы разнообразия. Впервые в условиях Лесостепи Украины методом пиросеквенирования выявлен и оценен метагеном прокариот чернозема типичного, значительную часть которых составляли формы, которые не детектируются классическими микробиологическими методами. Установлено, что применение биологической и экологической систем земледелия обуславливает высокий уровень разнообразия микроорганизмов, а промышленная система приводит к обеднению полиморфизма микробиоты почвы.

*Ключевые слова:* прокариоты, микроорганизмы, метагеном, пиросеквенирование, многообразие, агромероприятия, чернозем типичный, ризосфера, сахарная свекла.

***M. V. Patyka<sup>1</sup>, Yu. P. Borko<sup>2</sup>, O. A. Tsuk<sup>1</sup>***

<sup>1</sup> *National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine  
Ukraine, 03041, Kyiv, Heroev Oborony street, 13*

<sup>2</sup> *NSC "Institute of Agriculture NAAS"  
08162, Kyiv, Kiev-Svyatoshinsky district, Chabany,  
Mashinostroiteley street 2-B*

**THE FEATURES OF DIVERSITY FORMATION OF EUBACTERIAL  
COMPLEX IN SUGAR BEET (*BETA VULGARIS*) RHIZOSPHERE AT THE  
APPLICATION OF DIFFERENT AGROMEASURES**

**Summary**

The formation features of quantitative composition, morphotypes diversity, the distribution of the dominant forms of eubacterial complex in sugar beet rhizosphere has been analyzed in this article and ecological indices of their diversity has been identified. Prokaryotes metagenome of chernozem typical has been detected and evaluated by the pyrosequencing method for the first time under conditions of forest-steppe of Ukraine. The forms that are not detected by classical microbiological methods formed the significant proportion of metagenome. The application of biological and ecological agrarian systems causes the high diversity of microorganisms, and industrial system leads to the impoverishment of the soil microbiota polymorphism has been established.

*Keywords:* prokaryotes, microorganisms, metagenome, pyrosequencing, diversity, agromeasures, chernozem typical, rhizosphere, sugar beet.



1. Андронов Е.Е., Пинаев А.Г., Першина Е.В. Научно-методические рекомендации по выделению высокоочищенных препаратов ДНК из объектов окружающей среды. – ГНУ ВНИИСХМ, 2011. – 27 с.
2. Асеева И.В., Бабьева И.П., Бызов Б.А. Методы почвенной микробиологии и биохимии / Под ред. Д.Г. Звягинцева. – М.: МГУ, 1991. – 330 с.
3. Гадзало Я.М., Патыка Н.В., Заршныяк А.С. Агробиология ризосферы растений: монография. – К.: Аграрна наука, 2015. – 386 с.
4. Думова В.А., Патыка Н.В., Круглов Ю.В., Патыка В.Ф. Изучение биоразнообразия комплекса прокариотных микроорганизмов подзолистых почв // Мікробіологія і біотехнологія. – 2009. – № 6. – С. 60-65.
5. Колодяжний О.Ю., Андронов Є.Є., Пати́ка М.В. Молекулярно-біологічне оцінювання прокариотного комплексу чорнозему типового за вирощування пшениці озимої // Збірник наукових праць ННЦ «Інститут землеробства НААН» – 2014. – № 1-2. – С. 61-67.
6. Лабутова Н. М. Методы изучения почвообитающих микроорганизмов // Учебное пособие. – СПбГУ, 2008. – 48 с.
7. Москалевська Ю.П., Пати́ка М.В. Функціональне різноманіття мікробіоти чорнозему типового при вирощуванні буряка цукрового // Збірник наукових праць Уманського національного університету садівництва. – 2014. – № 2. – С. 47–54.
8. Одум Ю. Основы экологии / Под. ред. Н. П. Наумова. – М.: Мир, 1975. – 733 с.
9. Патыка Н.В., Круглов Ю.В., Мазиров М.А., Хохлов Н.Ф., Патыка В.Ф. Исследование дерново-подзолистых почв при возделывании льна-долгунца в сверхдлительном опыте // Корми і кормовиробництво. – 2008. – Вип. 62. – С. 258–268.
10. Патыка Н.В., Патыка В.Ф. Агробиология микроорганизмов: разнообразие, структурная организация и функциональные особенности // Тези доповідей міжнародної наукової конференції «Мікробіологія та імунологія – перспективи розвитку в XXI столітті» (10-11 квітня, 2014 р., м. Київ) – К., 2014. – С. 77–78.
11. Танчик С.П., Демідов О.А., Манько Ю.П. Екологічна система землеробства в Лісостепу України. Методичні рекомендації для впровадження у виробництво. – К: НУБіП України, 2011. – 39 с.
12. Чурикова В.В., Грабович М.Ю. Морфология и культивирование микроорганизмов: малый практикум по микробиологии. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2003. – 55 с.
13. Handelsman J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2004. – Vol. 68, № 4. – P. 669–685.
14. Kuczynski J., Stombaugh J., Walters W.A., González A., Caporaso J.G., Knight R. Using QIIME to analyze 16S rRNA gene sequences from Microbial Communities // Curr. Protoc. In Bioinformatics. – 2012. DOI: 10.1002/0471250953.bi1007s36
15. Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M. Microbial diversity and soil functions // European Journal of Soil Science. – 2003. – Vol. 54, № 4. – P. 655–670.
16. Ronaghi M. Pyrosequencing: a tool for DNA sequencing analysis // Methods of Molecular Biology – 2004. – Vol. 255. – P. 211–219.

Отримано 30.06.2016