

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Факультет водогосподарської інженерії та екології

Кафедра екології

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Зав. кафедрою екології

доц. _____ Вікторія КАЦЕВИЧ

« _____ » червня 2025р.

Пояснювальна записка

до кваліфікаційної роботи освітнього ступеня «Бакалавр»
на тему: «Вплив патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на
життєдіяльність в'яза низького (*Ulmus pumila* L.) у м. Дніпро»

Виконав: здобувач вищої освіти 4 курсу,
групи Е-1-21 спеціальності 101 «Екологія»

_____ Михайло МЕДВЕДЄВ

Керівник _____ проф. Кирило ГОЛОБОРОДЬКО

Дніпро 2025

ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет: Водогосподарської інженерії та екології

Кафедра: Екології

Освітньо-професійна програма: «Екологія»

Спеціальність: 101 «Екологія»

Ступінь вищої освіти: Бакалавр

ЗАТВЕРДЖУЮ:

зав. кафедрою екології

доц. _____ Вікторія КАЦЕВИЧ

« _____ » _____ 202__ р.

ЗАВДАННЯ

на підготовку кваліфікаційної роботи

Медведєву Михайлу Олександровичу

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи: Вплив патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на життєдіяльність в'яза низького (*Ulmus pumila* L.) у м. Дніпро.

Науковий керівник: Голобородько К.К., д.б.н., професор

Затверджена наказом по ДДАЕУ від «16» квітня 2025 р. №768

2. Термін подання здобувачем роботи: _____ р.

3. Вихідні дані до роботи: гербарій та банк фіто-патологічних даних НДІ біології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, що їх належить розробити): проаналізувати біологічну характеристику в'яза низького; дослідити життєдіяльність представників патогенного роду *Thyrostroma*; виявити вплив патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на життєдіяльність в'яза низького у м. Дніпро.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): ботанічна характеристика в'язу низького; зовнішній вигляд *Thyrostroma ulmicola*; профіль IEF та денситограма бензидинпероксидази в бруньках *Ulmus*; профіль IEF

бензидинпероксидази в молодому листі Ulmus; денситограма бензидинпероксидази в листках Ulmus; IEF-профіль бензидинпероксидази у Ulmus rumila листя 5-річного та 15-річного віку.

6. Дата видачі завдання: «_____» _____ 202_____ р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ пп	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1	Біоекологічна характеристика в'язу		Виконано
2	Екологічні особливості життєдіяльності патогенних Thyrostroma		Виконано
3	Опис методів і матеріалів		Виконано
4	Вплив патогенного гриба Thyrostroma ulmicola на життєдіяльність в'яза низького (Ulmus rumila L.) у м. Дніпро		Виконано
5	Оформлення рукопису кваліфікаційної роботи		Виконано

Здобувачка

_____ Михайло МЕДВЕДЄВ
(підпис) (Ім'я та прізвище)

Керівник роботи

_____ Кирило ГОЛОБОРОДЬКО
(підпис) (Ім'я та прізвище)

РЕФЕРАТ

Дипломна робота висвітлює особливості впливу патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на життєдіяльність в'яза низького (*Ulmus pumila* L.) у м. Дніпро.

Робота складається з 42 сторінок тексту, 3 таблиць, 7 рисунків, 40 літературних джерел. Робота складається з чотирьох розділів, у яких представлено результати, отримані в процесі дослідження.

Об'єкт досліджень: дерева в'язу низького.

Предмет досліджень: особливості впливу патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на життєдіяльність в'яза низького.

Мета роботи – з'ясувати особливості впливу патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на життєдіяльність в'яза низького.

З метою реалізації поставленої мети визначено такі наукові завдання:

1. Проаналізувати біологічні характеристики в'язу низького.
2. З'ясувати екологічні особливості життєдіяльності патогенних *Thyrostroma* на деревах.
3. Виявити вплив патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на реакції пероксидазної системи листя в'яза низького у м. Дніпро.
4. Виявити вплив патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на ізоферментний склад листя в'яза низького у м. Дніпро.

Методи дослідження: екологічні; біохімічні; фізіологічні.

Ключові слова: зелені зони м. Дніпро, *Ulmus pumila*, *Thyrostroma ulmicola*, ферментні комплекси.

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. БІО-ЕКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА В'ЯЗУ НИЗЬКОГО (<i>ULMUS PUMILA</i>)	7
1.1. Ботанічна характеристика	7
1.2. Досвід інтродукції	11
РОЗДІЛ 2. ЕКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ ДЕНДРОПАТОГЕННИХ ГРИБІВ РОДУ <i>THYROSTROMA</i>	17
РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	21
3.1. Методи досліджень	21
3.2. Техніка безпеки у науково дослідній лабораторії молекулярної біології та фізіології рослин ДНУ	23
РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ ПАТОГЕННОГО ГРИБА <i>THYROSTROMA</i> <i>ULMICOLA</i> НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ В'ЯЗА НИЗЬКОГО (<i>ULMUS PUMILA</i> L.) У М. ДНІПРО	25
4.1. Особливості реакції пероксидазної системи в'яза низького	25
4.2. Вплив патогену на ізоферментний склад	30
ВИСНОВКИ	37
ЛІТЕРАТУРА	38

ВСТУП

Численні дослідження свідчать, що одним із найнебезпечніших чинників зниження довговічності та захисних функцій лісів і міських насаджень є грибові захворювання. Інфекційні хвороби проникають у насадження разом із посадковим матеріалом, що надходить як з українських, так і з іноземних лісових і декоративних розсадників.

Широке поширення збудників інфекцій у міських насадженнях зумовлюється низкою порушень: недотриманням правил транспортування, недостатнім контролем за якістю завезеного посадкового матеріалу з інших регіонів України та з-за кордону, несвоєчасним знищенням джерел інфекції, а також невідповідністю кліматичних умов для вирощування певних видів. Усі ці чинники призводять до погіршення умов зростання рослин і зниження їх стійкості до захворювань, зокрема грибових.

Серед видів роду *Ulmus*, що зростають в Україні, *U. pumila* (в'яз низький) є інтродукованим азійським видом, який добре натуралізувався і зараз вважається інвазивним у майже всіх регіонах країни. Останніми роками популяції *U. pumila* L. стали вразливішими до серйозних пошкоджень, спричинених фітопатогенним грибом *Thyrostroma ulmicola*.

Отже, метою нашого дослідження було – з'ясувати особливості впливу патогенного гриба *Thyrostroma ulmicola* на життєдіяльність в'яза низького.

РОЗДІЛ 1. БІО-ЕКОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА В'ЯЗУ НИЗЬКОГО (ULMUS PUMILA)

1.1. Ботанічна характеристика

В'яз низький (*Ulmus pumila* L.) – це дерево, родом з Азії. Він також відомий як азійський в'яз та карликовий в'яз, але іноді його помилково називають «китайським» в'язом (*Ulmus parvifolia*). *U. pumila* широко культивується по всій Азії, Північній Америці, Аргентині та південній Європі, натуралізуючись у багатьох місцях, зокрема у більшій частині Сполучених Штатів [1].

В'яз низький є невеликим або середнім за розміром, часто куцистим, листяним деревом, що виростає до 25 м заввишки, діаметром на висоті грудей до 1 м. Кора темно-сіра та нерівномірно поздовжньо тріщинувата. Гілочки жовтуватого-сірого, голі або опушені, безкрилі та без коркового шару, з розкиданими чечевицями.

Зимові бруньки від темно-коричневих до червоно-коричневих, кулясті до яйцеподібних. Черешок має 4–10 міліметрів (рис. 1.1.) та опушений; листова пластинка еліптично-яйцеподібна до еліптично-ланцетної, 2–8 на 1,2–3,5 сантиметра, колір якої восени змінюється з темно-зеленого на жовтий [2].

Ідеальні, безпелюсткові, запилювані вітром квіти цвітуть протягом одного тижня ранньою весною, до появи листя, щільними пучками на гілочках минулого року [3] Квіти, що з'являються на початку лютого, часто пошкоджуються морозами (через що вид виключають з голландської програми селекції в'яза) [4].

Кожна квітка має діаметр близько 3 мм і зелену чашечку з чотирма або п'ятьма лопатями, від чотирьох до восьми тичинок з коричнево-червоними пильовиками, [5] і зелену маточку з дволопатею

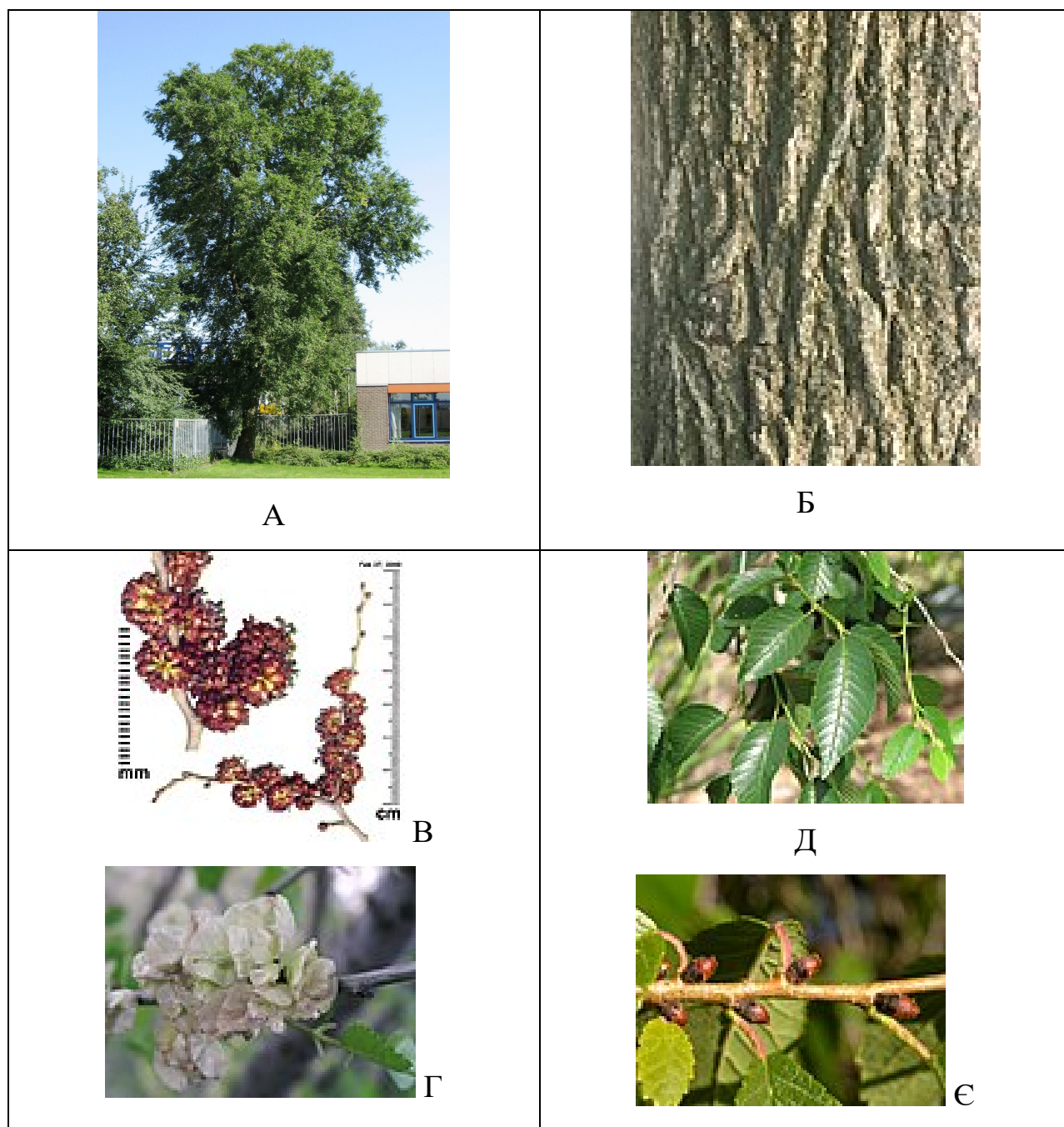


Рис. 1.1. Ботанічна характеристика в'язу низького: А – доросле дерево; Б – кора; В – суцвіття; Г – насіння; Д – листя; Є – пазушні бруньки

стовпчиком [3] На відміну від більшості в'язів, низький в'яз здатний успішно самозапильоватися [6].

Рознесені вітром самари мають білувато-коричневий колір, округлу, рідко широко оберненояйцеподібну або еліптичну форму, розміром 1 см–2 см × 1 см–1,5 см, голі, за винятком опушення на рильцеподібній поверхні; стебло має довжину 1–2 мм, а оцвітина стійка. Насіння знаходиться в центрі самари або іноді трохи ближче до верхівки, але не досягає верхівкової виїмки. Цвітіння та плодоношення відбуваються з березня по травень. Плоїдність: $2n = 28$. [7] Дерево також легко відгалужується від коренів.

Дерево недовговічне в помірному кліматі, рідко досягаючи віку понад 60 років, але в рідному середовищі може жити від 100 до 150 років [8]. Гігантський екземпляр, знайдений за 45 км на південний схід від Ханбогта на півдні Гобі, з обхватом 5,55 м у 2009 році, може мати вік понад 250 років (на основі середньої ширини річних кілець інших *U. pumila* в цьому районі).

Цей вид був описаний Пітером Саймоном Палласом у 18 столітті за зразками із Забайкалля.

Традиційно визнавали два різновиди: *U. p. var. pumila* та *U. p. var. arborea*, але останній зараз розглядається як окремий сорт, *U. pumila* 'Pinnato-ramosa'.

Дерево походить з Центральної Азії, східного Сибіру, Далекого Сходу Росії, Монголії, Тибету, північного Китаю, Індії (північного Кашміру) та Кореї [8]. Це останній вид дерев, що зустрічається в напівпустельних регіонах Центральної Азії [9].

Дерево має значну мінливість у стійкості до голландської хвороби в'яза; наприклад, дерева з північно-західного та північно-східного Китаю демонструють значно вищу стійкість, ніж дерева з центрального та південного Китаю [10]. Крім того, воно дуже схильне до пошкоджень

багатьма комахами та паразитами, включаючи жука-листїда в'яза *Xanthogaleruca luteola*, [11] азійського «зигзагоподібного» пильщика *Aproceros leucopoda*, [12] жовтушки в'яза, борошнисту росу, виразки, [13] попелицю, плямистість листя та, в Нідерландах, грибок коралової плямистості *Nectria cinnabarina*. *U. pumila* є найстійкішим з усіх в'язів до вертицильозного в'янення [14].

У Північній Америці *U. pumila* стала інвазивним видом у більшій частині регіону від центральної Мексики [15] на північ через східні та центральні Сполучені Штати до Онтаріо, Канада. Вона також гібридизується в дикій природі з місцевим *U. rubra* (слизьким в'язом) у центральній частині Сполучених Штатів, що викликає занепокоєння щодо збереження останнього виду [16]. У Південній Америці дерево поширилося по більшій частині аргентинських пампасів.

У Європі вона широко поширилася в Іспанії та там активно гібридизується з місцевим польовим в'язом (*U. minor*), що сприяє занепокоєнню щодо збереження останнього виду [17]. Тривають дослідження щодо ступеня гібридизації з *U. minor* в Італії. У Нідерландах 1700 низьких в'язів, помилково посаджених замість польового в'яза у 2016 році в Залкербосі поблизу Кампена, Оверейсел, були викорчовані через побоювання щодо інвазивності та замінені у 2023 році місцевими видами.

U. pumila часто зустрічається у великій кількості вздовж залізничних колій, на покинутих ділянках та на порушеній землі. Гравій вздовж залізничних колій забезпечує ідеальні умови для її зростання - добре дренований, бідний на поживні речовини ґрунт та високі умови освітлення; ці шари забезпечують коридори, що сприяють її поширенню.

Вона зустрічається на висоті до 8000 футів у горах Сандія в Нью-Мексико та вторгається в хвойні ліси там. Нью-Мексико може бути центром генетичного різноманіття в Північній Америці. Через високі вимоги до сонячного світла вона рідко вторгається в зрілі ліси та є

переважно проблемою в містах та на відкритих територіях, [18] а також вздовж транспортних коридорів.

Цей вид зараз внесено до списку Японії як чужорідний вид, визнаний таким, що встановився в Японії або зустрічається в дикій природі Японії.

1.2. Досвід інтродукції

Рослини роду *Ulmus* широко використовують у захисному лісорозведенні та в озелененні населених місць України. У світі існує 40 видів роду *Ulmus*, з яких 25 зустрічаються в Китаї [5]. В'яз (*Ulmus*) має широке поширення, від тропіків до холодних помірних зон, і в основному знаходиться в Центральній Азії, Казахстані, Сибіру, Монголії, Забайкаллі, Північній Кореї та інших країнах Північної півкулі.

У лісовому фонді України в'язові насадження становлять < 0.1%. У Дніпропетровській області зростають чотири види в'язів: в'яз польовий (*U. minor* Mill.), в'яз гладкий (*U. laevis* Pall.), в'яз приземкуватий (*U. pumila* L.) і в'яз шорсткий (*U. glabra*).

Види *Ulmus* стійкі до посушливого клімату, холоду та солоно-лужних умов, що дозволяє їм рости на сухих, безплідних дюнах і каштанових ґрунтах. Високий вміст білка в листі використовують як корм для тварин, а їх плоди і кору – як ліки. Крім того, в'язи здатні до прискорення циклів азоту та фосфору в екосистемах [17]. Масове ураження в'язових насаджень голландською хворобою (збудник *Ophiostoma ulmi*, пізніше – *Ophiostoma novo-ulmi*) обмежило інтерес до вирощування в'язів.

Водночас, погіршення стану багатьох деревних порід у зв'язку з глобальним потеплінням і підвищенням антропогенного навантаження [11] підвищило інтерес до досліджень особливостей поширення і розвитку шкідників і хвороб, що пошкоджують види роду *Ulmus*. Внутрішньовидовий пошук індивідів з підвищеною толерантністю до абіотичного та біотичного

стресів виправданий як у природних популяцій, так і в штучних насадженнях, оскільки виживання рослин визначається їх індивідуальними особливостями.

В Україні приділяють велику увагу виявленню біологічних особливостей окремих видів в'язів. У Лівобережному степу (Сумська, Харківська та Донецька області) визначено особливості поширення чотирьох видів роду *Ulmus* (*Ulmus minor*, *Ulmus laevis* Pall., *Ulmus pumila*, *Ulmus glabra* Huds.) за типами лісорослинних умов.

U. pumila була завезена до Іспанії як декоративна рослина, ймовірно, за часів правління Філіпа II (1556–1598), [19] а з 1930-х років до Італії. У цих країнах вона природно гібридизувала з польовим в'язом (*U. minor*). В Італії вона широко використовувалася у виноградарстві, зокрема в долині річки По, для підтримки виноградних лоз до 1950-х років, коли вимоги механізації зробили її непридатною.

Три екземпляри були поставлені берлінським розплідником Späth до Королівського ботанічного саду Единбурга (RBGE) у 1902 році як *U. pumila*, [20] на додаток до екземплярів вузьколистого сорту *U. pumila* 'Pinnatiramosa'. Один був посаджений у RBGE; два, що не були посаджені в саду, можуть вижити в Единбурзі, оскільки в саду було прийнято розподіляти дерева по місту.

К'ю-Гарденс отримав зразки *U. pumila* з дендрарію Арнольда в 1908 році та, як *U. rekinensis*, через розсадники Вейча в 1910 році від Вільяма Пердома в північному Китаї [20]. Зразок, отриманий зі Шпета та посаджений у 1914 році, стояв у дендрарію Райстон-Холл, Норфолк, на початку 20 століття.

Дерево розмножувалося та продавалося розсадником Hillier & Sons, Вінчестер, Гемпшир, з 1962 по 1977 рік, за цей час було продано понад 500 штук [17]. Зовсім недавно популярність *U. pumila* у Великій Британії була майже виключно як об'єкт для бонсай, а дорослі дерева здебільшого обмежуються дендрарієм.[потрібне посилання]

У Великій Британії чемпіони TROBI ростуть у дендрарії Торп-Перроу, Йоркшир, 19 м × 70 см у 2004 році та в садах Святої Анни, Хоув, Сассекс, 20 м × 60 см у 2009 році [16].

Вважається, що *U. pumila* була завезена до США в 1905 році професором Джоном Джорджем Джеком, [20] а пізніше Френком Ніколасом Мейером, хоча «сибірський в'яз» згадується в деяких каталогах розплідників США 19-го століття. Дерево культивували на експериментальній станції Міністерства сільського господарства США (USDA) у Мандані, Північна Дакота, де воно процвітало.

Згодом Міністерство сільського господарства США відібрало його для посадки в захисних смугах прерій після катастроф Пилової чаші, де його швидке зростання та стійкість до посухи та холоду спочатку зробили його дуже успішним. Однак пізніше вид виявився схильним до численних хвороб.

Спроби знайти більш підходящий сорт були розпочаті в 1997 році Центром рослинних матеріалів Міністерства сільського господарства США, який створив експериментальні плантації в Акроні, штат Колорадо, та Сіднеї, штат Небраска. Дослідження № 201041К мало завершитися у 2020 році. Національний чемпіон США, висотою 33,5 м у 2011 році, росте в окрузі Беррієн, штат Мічиган [20].

Насіння швидко втрачає свою схожість після дозрівання, якщо його не помістити в відповідні умови для пророщування або не висушити та не помістити при низьких температурах. Цей вид має високі потреби в сонячному світлі та не є тіньовитривалим; за достатнього освітлення він демонструє швидке зростання.

Дерево також досить непереносиме до вологих ґрунтів, краще росте на добре дренованих ґрунтах. Хоча воно дуже стійке до посухи та сильних холодів і здатне рости на бідних ґрунтах, його короткий період спокою, цвітіння ранньою весною з подальшим безперервним зростанням до перших осінніх заморозків, [12] робить його вразливим до пошкоджень від морозів.

Як декоративна рослина, *U. pumila* є дуже бідним деревом, яке, як правило, недовговічне, з крихкою деревиною та поганою формою крони, але, тим не менш, воно користується певною популярністю завдяки швидкому зростанню та затіненню. Низький в'яз описують як «одне з найгірших... декоративних дерев у світі, яке не заслуговує на те, щоб його висаджували де завгодно» [20]. Проте в США протягом 1950-х років дерево також широко просувалося як швидкозростаюча заміна бирючини для живоплоту, і як наслідок, зараз воно зазвичай зустрічається майже у всіх штатах.

Так, за результатами багатофакторного польового експерименту, проведеного у Швеції, визначено, кліматичні зміни, що прогнозуються, можуть викликати здвиги у весняній фенології (строках проростання сіянців та олистяності крон дерев) та впливати на продуктивність та смертність сіянців дуба через комплексну та послідовну дію абіотичних та біотичних факторів, а саме, зміни освітленості нижніх ярусів, ушкодження сіянців борошнистою росою (*Erysiphe alphitoides*, *E. hypophylla*), мілкими травоядними ссавцями та травоядними комахами [17].

Цінуючись за високу стійкість деяких клонів до голландської хвороби в'яза, було зроблено понад десяток селекцій для отримання витривалих декоративних сортів, хоча деякі з них, можливо, вже не культивуються.

Строкатий плакучий в'яз з кремовою, темно-зеленою та світло-зеленою строкатістю культивується в Китаї як *Ulmus pumila* 'Variegata' [20].

Деякі фахівці вважають сорт 'Berardii' формою *U. Pumila* [18]. Ноттінгемський в'яз, який Річенс вважав *Ulmus* × *hollandica*, продавався з 19 століття як «сибірський в'яз».

Серед видів роду *Ulmus*, що зростають в Україні, *U. pumila* (в'яз приземкуватий) є інтродукованим азійським видом, який добре натуралізувався і зараз вважається інвазивним у майже всіх регіонах країни.

Природно цей вид зростає в Китаї, Монголії, Казахстані, Західному Сибіру, Тибеті, Індії і Кореї, а також культивується у Південній Європі, Аргентині і Північній Америці і на більшій частині Сполучених Штатів. Це останній вид дерев, який зустрічається в напівпустельних регіонах Центральної Азії (16).

U. pumila невимогливий до родючості і вологості ґрунту, виносить слабку засоленість ґрунту. Швидко росте, світлолюбний і морозостійкий вид. Користується певною популярністю завдяки своєму швидкому росту та створенню тіні. Всі ці екологічні фактори роблять його перспективним з точки зору більш широкого впровадження в зелені насадження населених місць України, Південь і Схід якої сильно потерпає від глобального потепління. В'яз низький відновлюється насінням і рясною порослю від пня.

Натомість серйозним недоліком цього виду є його вразливість шкідниками і хворобами. Найбільшу шкоду йому наносить голландська хвороба, яка викликається грибом *Graphium ulmi*, що призводить до масової суховершинності та усиханню дерев (https://en.wikipedia.org/wiki/Ulmus_pumila). У той же час, дерева в'яза низького мають значну варіабельність стійкості до голландської хвороби. Наприклад, дерева з північно-західного та північно-східного Китаю виявляють значно вищу толерантність, ніж дерева з центрального та південного Китаю [19].

Крім того, він дуже сприйнятливий до пошкодження багатьма комахами та паразитами, включаючи в'язового листоїда *Xanthogaleruca luteola*, азійського «зигзагоподібного» пильщика *Aproceros leucopoda* в'яза жовтого, борошнистої роси, виразок попелиці, плямистість листя та, в Нідерландах, гриб коралової плямистості *Nectria cinnabarina*.

U. pumila найбільш стійкий з усіх в'язів до вертицильозного в'янення [14]. В'яз польовий (*U. minor*) місцевий вид східних і західних областей України, часто зустрічається поряд з азійським в'язом, і вважається, що ці два види схрещуються [20].

РОЗДІЛ 2. ЕКОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЖИТТЄДІЯЛЬНОСТІ ДЕНДРОПАТОГЕННИХ ГРИБІВ РОДУ THYROSTROMA

Безстатевий рід *Thyrostroma* був описаний Хьонелем (1911) разом із *Thyrostroma compactum* (Sacc.) Höhn. як типовим видом.

Рід характеризується темно-коричневими спородохіями, зануреними до поверхневих стромат, коричневими септованими конідієносцями, субциліндричними коричневими конідіогенними клітинами та еліпсоїдними до веретеноподібних багатосептованими коричневими конідіями.

Наразі на сайті «Index Fungorum 2019» є 15 видових епітетів роду *Thyrostroma*, але дані про послідовності доступні лише для трьох опублікованих видів, а саме: *T. compactum*, *T. cornicola* Crous & H.D. Shin та *T. franseriae* Crous у Genbank. Види *Thyrostroma* є патогенними для широкого кола господарів [21].

Типовий вид *T. compactum* асоціюється з тиреоїдною інфекцією в'язів (*Ulmus* spp.) у Європі та США і добре відомий як важливий патоген в'язів, особливо *Ulmus pumila* L. (низького в'язу) та гібридів інших видів *Ulmus* [21].

Також повідомлялося про цей вид з Наманганської області, Узбекистан на *Ulmus densa* Litv і *Juglans regia* L., *Sophora japonica* L.. *Thyrostroma compactum* var. *tiliae* (Sacc.) Höhn. широко поширений збудник, який викликає рак липи (*Tilia* spp.) у багатьох регіонах Росії [21], України [22]. *Thyrostroma cornicola* спричиняє плямистість листя *Cornus officinalis* у Кореї. *Thyrostroma eucalypti*, описана Юанем та Олдом (1990), пов'язана з виразками стебел та відмиранням кількох видів сухоцвітих лісових евкаліптів у пасторальних

районах південно-східної Австралії. *Thyrostroma franseriae* є патогенною для живого листа *Franseria* sp. у Долині Смерті, Невада (США) [21]. *Wilsonomyces carpophilus* (= *Thyrostroma carpophilum*) вважається основним джерелом ризику виникнення хвороби пострілових отворів кісточкових плодових культур (*Prunus* spp.) у всьому світі.

Рід *Thyrostroma* був пов'язаний з *Dothidotthia*. Crous et al. (2016) [23] повідомляли, що тип роду скупчується в *Pleosporales*, що означає, що безстатева морфа *Dothidotthia* є подібною до тиреостромної, але ці два роди не є однорідними. Тим не менш, *Thyrostroma* скупчується в кладі *Dothidotthiaceae* [21], як раніше запропонували Phillips та ін. (2008). Родина *Dothidotthiaceae* була створена для того, щоб врахувати єдиний рід *Dothidotthia*.

Філогенетичний аналіз, проведений [23], показав, що *Dothidotthiaceae* відрізняється від інших родин *Pleosporales* і тісно пов'язана з родиною *Didymellaceae*.

У 2019 р. було описано новий вид – *Thyrostroma ulmicola* Senwanna, Wanas., Bulgakov, Phookamsak & K.D. Hyde, *Mycosphere* 10, 729 (2019).

Індексний номер Fungorum: IF556533; Номер Facesoffungi: FoF09097. Пов'язаний з виразкою на гілочках *Ulmus minor*. Статева морфа: Невизначена. Безстатева морфа: Колонії розпливчасті, строматичні, чорні, оксамитові.

Спородохії 300–750 мкм у діаметрі, частково занурені, з псевдопаренхіматозною базальною строною, прориваються крізь епідерміс хазяїна, пульвінізовані до апланації (рис. 2.1.). Конідіофори 28–57 × 6–8 мкм ($\bar{x}$ = 41,8 × 7,3 мкм, n = 30), макронематозні, прямостоячі, щільно упаковані, септовані, розгалужені, від гіалінового до блідо-коричневого кольору, гладкі. Конідіогенні клітини 13–23 мкм ($\bar{x}$ = 18,3 мкм, n = 40) завдовжки, голобластичні, монобластичні, анелідні, перкурентно проліферуючі з 1–3 анеляціями, інтегровані, кінцеві.

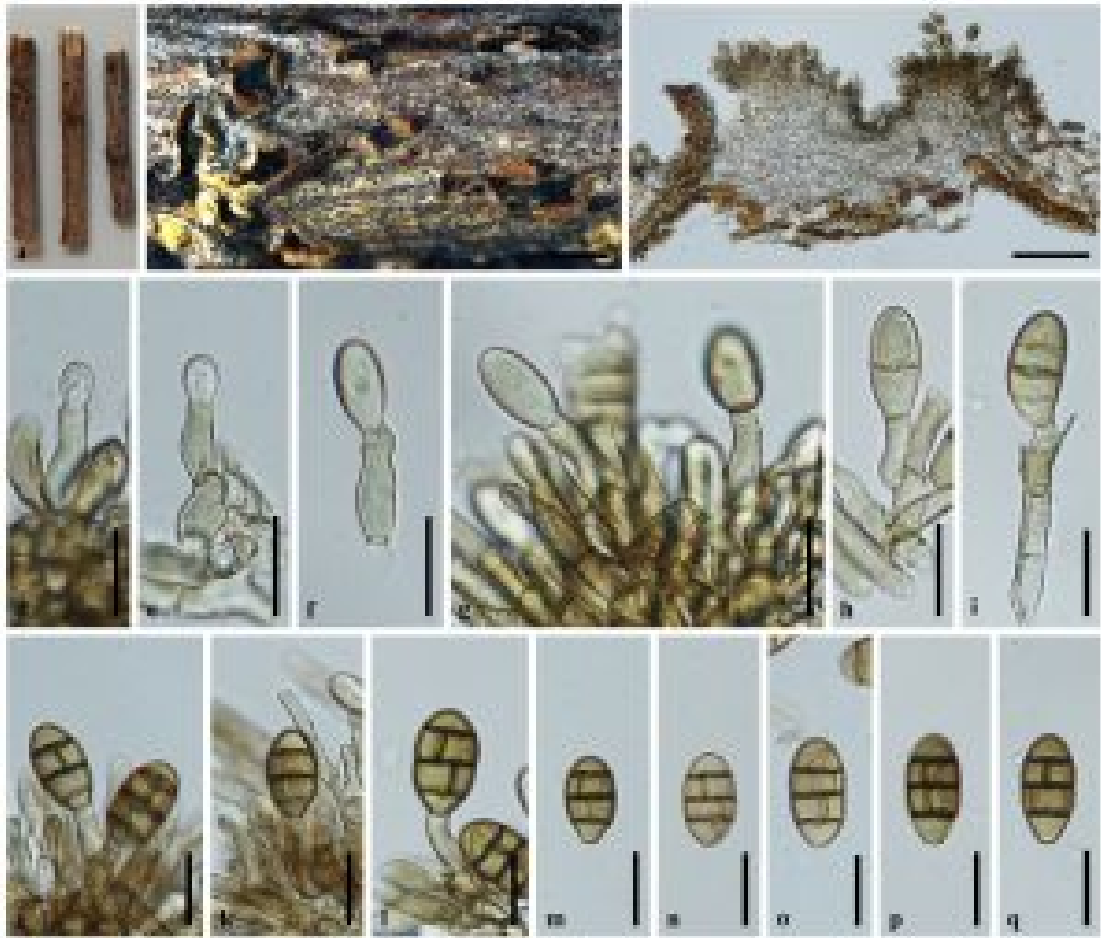


Рис. 2.1. Зовнішній вигляд *Thyrostroma ulmicola*: a–b спородохії на поверхні хазяїна. c – вертикальний розріз спородохії. d–l стадії розвитку конідій. m–q конідії. Масштабні смуги: b = 1000 мкм, c = 100 мкм, d–q = 20 мкм.

Конідії $24\text{--}30 \times 12\text{--}16$ мкм ($\bar{x} = 27,5 \times 14,4$ мкм, $n = 40$), акрогенні, еліпсоїдні до оберненояйцеподібної форми, підключоподібні, муровиді, від блідо- до темно-коричневих, усічені біля основи, діаметром 3–6 мкм, заокруглені на верхівці, переважно з 3 поперечними перегородками, з поздовжніми 0–1 перегородками, звужені біля перегородок, шорсткі, дрібно голчасті (рис. 2.1).

Досліджений матеріал — Україна, Донецька область, регіональний ландшафтний парк «Донецький кряж» («Донецький кряж», заповідна

зона), яружний ліс, на мертвих гілках *Ulmus minor* (Ulmaceae), 19 травня 2017 р., Т.С. Булгаков DNK074 (MFLU 17-2496).

Матеріали GenBank – ITS: MT627475, LSU: MT627477.

Відоме поширення (на основі молекулярних даних) – Україна.

Відомі господарі (на основі молекулярних даних) – *Ulmus pumila* [24], *Ulmus minor*.

Thyrostroma ulmicola була представлена Сенванною та ін. (2019) [24] на основі морфологічних порівнянь та філогенетичного аналізу. Новий ізолят (MFLU 17-2496) був зібраний з гілочок *Ulmus minor* в Україні. Морфологія нашого ізоляту подібна до *T. ulmicola*, описаної Сенванною та ін. (2019a), хоча наш ізолят має довші конідіогенні клітини та менші конідії, ніж у початковому описі (конідіогенні клітини: 11–29 мкм проти 6–13 мкм; конідії: 23–32 × 11–17 мкм проти 30–59 × 12–26 мкм) [24].

Філогенетичний аналіз об'єднаного набору даних послідовностей LSU, SSU, ITS та TEF1- α показує, що наш штам (MFLU 17-2496) групується з *T. ulmicola* з помірною підтримкою (88% ML та 0,99 BYPP).

Згідно з пошуком послідовностей LSU та ITS за допомогою NCBI BLASTn, наш новий ізолят показав 99% та 98% подібності з *T. ulmicola* відповідно.

РОЗДІЛ 3. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Методи досліджень

Об'єктом дослідження були рослини в'яза азійського (*U. pumila* L.) віком 5-15 (I), 20-30 (II) і 50-60 (III) років з ознаками тиростромозу у старшому віці (рис.3.1).



Рис. 3.1. Фотографія уражених гілок в'яза низького

Вивчення у листі антиоксидантного статусу уражених дерев проводили у 2024 році на локації, розташованій на території Ботанічного саду Дніпровського національного університету у м. Дніпро.

Листки і бруньки в кількості 10-12 штук відбирали з 7 дерев в'яза низького (*U. pumila*) і польового (*U. minor*) різної вікової категорії (I, II і III) з однакової локації крони дерева в березні (бруньки), в першій декаді липня, серпня і вересня (листки).

Нами було проведено біохімічний аналіз.

Для аналізу біохімічних показників рослинний матеріал було гомогенізовано у 3 мл 0,1 М розчину Tris-HCl (pH 7,4) за температури 4 °C. Отримані екстракти центрифугували при 16000 g протягом 20 хвилин, після чого використовували для визначення вмісту легкорозчинних білків (ЛРБ), а також для аналізу активності та ізоферментного складу пероксидаз і каталази.

Активність бензидинової пероксидази (BPOD, EC 1.11.1.7) визначали відповідно до методики Gregory (1966) шляхом реєстрації змін оптичної густини протягом 1 хвилини при довжині хвилі 490 нм після додавання 1% H_2O_2 до реакційної суміші (оцтовий буфер, pH 6.0, 0,02 мМ бензидин, 0,2 мл зразка). Результати подано у одиницях активності на грам сирової маси за хвилину на міліграм білка ($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW} \cdot \text{min} \cdot \text{mg protein}^{-1}$).

Вміст білка визначали колориметричним методом Bradford (1976), використовуючи барвник Coomassie brilliant blue G-250 (Serva, США) і як стандарт — сироватковий альбумін великої рогатої худоби (Serva, США). Результати виражали у $\text{мг} \cdot \text{г}^{-1}$.

Ізоферментний склад пероксидаз досліджували методом ізоелектричного фокусування (IEF) у 5% горизонтальному поліакриламідному гелі (PAAG) з використанням апарата Ultrophor (LKB, Швеція) у діапазоні pH 3,5–6,0. Забарвлені гелі сканували та аналізували за допомогою програмного забезпечення 1D Phoretix.

Оцінювання активності гваякол-залежної пероксидази (GPx, EC 1.11.1.7) здійснювали за методикою Ranieri та співавт. (2001) шляхом вимірювання окиснення гваяколу при 470 нм. Реакційна суміш містила оцтовий буфер (pH 6.0), 2 мМ гваякол, 0,2 мл ферментного препарату і 0,15% H_2O_2 . Активність розраховували з урахуванням молярного коефіцієнта екстинкції ($26,6 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$) та виражали в $\text{мкМ TG} \cdot \text{мг}^{-1} \text{білка} \cdot \text{хв}^{-1}$.

Каталазна активність (CAT, EC 1.11.1.6) визначалась відповідно до методики Goth (1991) шляхом реєстрації оптичної густини при 410 нм у реакційній суміші, що містила 0,2 мл ензимного препарату, 0,1% H₂O₂ та 4% амоній молібдату. Результати обчислювали з використанням коефіцієнта екстинкції (22,2 М⁻¹·см⁻¹) та виражали у мМ H₂O₂·мг⁻¹ білка·хв⁻¹.

Активність ферментів оцінювали за даними 12 біологічних повторень (n = 12; $\bar{x} \pm SD$). Для виявлення відмінностей у біохімічних показниках між віковими групами в'язів під час інфікування *T. ulmicola* застосовували однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA). Для статистичної перевірки достовірності різниць між середніми значеннями використовували критерій Тьюкі (HSD), встановлюючи рівень значущості $p \leq 0,05$.

Обробку результатів здійснювали з використанням програмного забезпечення Statistica (версія 8, StatSoft, США). У якості контрольної вибірки розглядали листки безсимптомних рослин *Ulmus rumila* вікової групи I (10–15 років). Для порівняння з чутливими до тиростромозу деревами *Ulmus rumila* аналогічного віку також використовували зразки листя *Ulmus minor* вікової категорії III, що не проявили ознак інфекції.

3.2. Техніка безпеки у науково дослідній лабораторії молекулярної біології та фізіології рослин ДНУ

Дослідження виконувалися на базі науково-дослідної лабораторії фізіології та молекулярної біології рослин, що функціонує при науково-дослідному інституті біології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара.

Лабораторія розміщена у навчальному корпусі №17 (5 поверх, кабінет 501) та займає окреме приміщення площею 40 м², обладнане трьома вікнами. Водопостачання та водовідведення організовані відповідно до чинних санітарно-гігієнічних норм. Робота з джерелами постійного струму (220 В)

під час експлуатації лабораторного обладнання здійснюється згідно з нормативними вимогами електробезпеки.

Освітлення приміщення в денний і вечірній час відповідає діючим санітарним нормам для лабораторій, що спеціалізуються на хімічних і біологічних дослідженнях.

У приміщенні науково-дослідної лабораторії фізіології та молекулярної біології рослин дотримано всіх протипожежних вимог відповідно до чинного стандарту ГОСТ 12.1.004-91. Розміщення та експлуатація лабораторного обладнання здійснюються згідно з вимогами безпеки життєдіяльності, що встановлені для функціонування науково-дослідних лабораторій.

Усі прилади лабораторії використовуються відповідно до Свідоцтва ДП «Дніпропетровський регіональний державний науково-технічний центр стандартизації, метрології та сертифікації» (ДП «ДНПРОСТАНДАРТМЕТРОЛОГІЯ») № ПЧ 06-2/1150-2023 від 14 липня 2023 року та додатку № 2 до нього, датованого 30 листопада 2023 року.

Наявна технічна документація та сертифікати підтверджують відповідність лабораторного обладнання вимогам ДСТУ ISO 10012:2005 «Системи керування вимірюваннями. Вимоги до процесів вимірювання та вимірювального обладнання».

РОЗДІЛ 4. ВПЛИВ ПАТОГЕННОГО ГРИБА THYROSTROMA ULMICOLA НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ В'ЯЗА НИЗЬКОГО (ULMUS PUMILA L.) У М. ДНІПРО

4.1. Особливості реакції пероксидазної системи в'яза низького

Численні дослідження свідчать про те, що однією з основних загроз для тривалого існування, стабільності та захисної здатності лісових і урбанізованих зелених насаджень є поширення грибкових захворювань [25].

Збудники інфекційних хвороб проникають у середовище зелених насаджень разом із посадковим матеріалом, що надходить як із вітчизняних, так і з іноземних лісових та декоративних розсадників. Неприятливими чинниками, що сприяють розповсюдженню патогенів у міських екосистемах, є порушення правил транспортування, недостатній контроль за якістю імпортованого матеріалу, несвоєчасне усунення джерел інфекції та невідповідність кліматичних умов місцевості до вимог вирощуваних видів. Сукупна дія цих факторів погіршує умови існування деревної рослинності та знижує її стійкість до ураження, зокрема до грибкових інфекцій.

Останніми роками популяції *U. pumila* L. стали вразливішими до серйозних пошкоджень, спричинених фітопатогенним грибом *Thyrostroma ulmicola* [24]. Види *Thyrostroma* (*T. ulmicola*, *T. celtidis*, *T. robiniae*, *T. tiliae* та інші) є патогенами, які спричиняють рак, відмирання та плямистість листя на широкому колі рослин-господарів.

Вперше в Україні *T. ulmicola* була досліджена на матеріалі з ландшафтного парку «Донецький кряж» на відмерлих гілках *U. minor* Булгаковим (19.05.2017, Т.С. Bulgakov, ДНК074 (МФЛУ 17-2496). На основі молекулярних досліджень у 2019 році виявлено інший господар *T. ulmicola* *U. pumila* [24].

Розвиток цього грибка часто виявляється згубним для уражених дерев, що призводить до загибелі більшості гілок і створює характерний патологічний вигляд крони, включаючи ракові пухлини біля основи мертвих гілок і численні нові пагони зі сплячих бруньок, які в основному відмирають наступного року внаслідок ураження *T. ulmicola*.

У м. Дніпро вперше тиростромоз зареєстрований у в'яза низького в 2022 році у насадженні 50-60-річного віку, а згодом і у більш молодих дерев, що підтвердилося дослідженням листя методом флуоресцентного зображення під бінокулярним мікроскопом.

Швидке прогресування хвороби та пов'язаний із цим стрес підкреслюють необхідність вивчення захисних механізмів *U. rumila*. Зокрема, представляє інтерес функціонування антиоксидантної системи рослини у відповідь на патогенну інфекцію, оскільки вона може відігравати ключову роль у пом'якшенні пошкоджень, викликаних окисним стресом.

Вплив широкого спектру мікроорганізмів, грибів і комах викликає у рослин підвищення генерації активних форм кисню (ROS), що сприяє запуску сигнальної функції клітин, а при сильному і довготривалому стресі відбувається пошкодження ліпідних структур, білків, ДНК і РНК, тому клітина потребує антиоксидантного захисту.

Перепрограмування рівня білків-ферментів антиоксидантної системи (супероксидоредуктаз, пероксидаз і каталази), а також білків регуляторної системи є невід'ємною частиною реакції рослинної клітини на несприятливі умови довкілля [26]. Дослідження активності та складу антиоксидантних ферментів, таких як каталаза (CAT) і пероксидази (BPh) і білків можуть дати цінну інформацію про здатність *U. rumila* протидіяти патогенам та іншим факторам стресу в міському середовищі.

Пероксидази каталізують окислення ряду органічних сполук, відіграють важливу роль у диханні рослин, фотосинтезі, регуляції ростових процесів, синтезі лігніну, що пояснює наявність великої

кількості молекулярних форм ензиму. Встановлено, що перебудова ізоферментної системи забезпечує стійкість рослин до дії зовнішніх факторів і регуляцію гомеостазу. Отже, ізоферменти є не тільки маркерами геному, але й визначають біохімічний статус і адаптивний потенціал рослин.

Результати ферментативного аналізу показали різну реакцію на вплив тиростромозу, що залежало від виду і віку рослин в'язів (табл. 4.1-4.3). У листі дерев II вікової групи в'яза низького виявлено значне зниження (на 36,9%) активності ВРх порівняно з молодшими деревами (табл. 4.1).

Таблиця 4.1.

Активність бензидин-пероксидази листя дерев в'язів різних вікових категорій на інфікування *T. ulmicola*

Number of leaves (july)	ВРх, U/g FW min* mg protein			
	<i>U. pumila</i> , I	<i>U. pumila</i> , II	<i>U. pumila</i> , III	<i>U. minor</i> , III
1	145,24 ± 0,31	90,76 ± 0,23	189,81 ± 4,23	309,71 ± 1,05
2	108,82 ± 0,02	110,00 ± 0,41	261,33 ± 3,08	270,44 ± 2,13
3	133,26 ± 1,09	101,03 ± 0,06	317,09 ± 0,65	112,09 ± 1,09
4	213,80 ± 3,42	50,87 ± 0,09	48,03 ± 0,23	249,75 ± 5,01
5	160,27 ± 5,04	88,44 ± 0,33	58,51 ± 0,19	123,49 ± 1,06
6	170,42 ± 0,98	131,12 ± 0,27	51,64 ± 1,05	184,30 ± 3,09
7	104,89 ± 0,73	61,42 ± 1,04	130,91 ± 5,07	258,60 ± 1,25
8	106,71 ± 0,61	124,15 ± 1,03	60,44 ± 0,75	229,59 ± 4,09
9	144,12 ± 6,11	107,09 ± 3,06	231,36 ± 7,22	291,61 ± 3,11
10	201,13 ± 4,06	95,58 ± 5,43	249,45 ± 5,16	285,42 ± 2,08
11	129,66 ± 1,02	81,32 ± 3,01	93,12 ± 0,79	127,18 ± 1,03
12	158,37 ± 2,07	78,93 ± 2,17	121,59 ± 2,02	143,74 ± 1,01
Means ± SD	148,06 ± 35,2 ^a / 23,7	93,39 ± 23,6 ^b /25,2	151,11 ± 95,0 ^{ac} /62,9	215,49 ± 73,2 ^d /34

Але вже у старшому віці цей параметр стабілізувався і був майже на рівні показників контролю. Найвища активність ВРх встановлена у листі рослин *U. minor*, активність якої була підвищена на 42,6% порівняно з в'язом низьким, а порівняно з рослинами II вікової групи в 2,3 рази. Спостерігається високий ступінь варіації активності ВРх у старих дерев (63%).

Аналіз активності гваякол-залежної пероксидази показав найвищий рівень у листі дерев II вікової категорії: в 2,1 рази порівняно з рослинами наймолодшого віку і в 3,3 рази порівняно із старшими деревами (табл. 4.2).

Таблиця 4.2.

Активність GPx та значення коефіцієнта варіації у листках роду *Ulmus*, уражених грибами *T. ulmicola*

Number of leaves (july)	GPx, $\mu\text{M TG/mg protein} \cdot \text{min}$			
	<i>U. pumila</i> , 15 years	<i>U. pumila</i> , 30 years	<i>U. pumila</i> , 50 years	<i>U. minor</i> , 50 years
1	1,57 $\pm$ 0,08	5,36 $\pm$ 0,35	1,94 $\pm$ 0,13	4,47 $\pm$ 0,62
2	2,11 $\pm$ 0,23	7,41 $\pm$ 0,54	0,76 $\pm$ 0,06	3,31 $\pm$ 0,24
3	2,35 $\pm$ 0,18	6,39 $\pm$ 0,73	1,28 $\pm$ 0,07	0,92 $\pm$ 0,04
4	1,20 $\pm$ 0,13	0,33 $\pm$ 0,05	1,04 $\pm$ 0,05	3,32 $\pm$ 0,15
5	1,69 $\pm$ 0,09	1,74 $\pm$ 0,22	1,09 $\pm$ 0,10	2,07 $\pm$ 0,37
6	2,69 $\pm$ 0,11	1,70 $\pm$ 0,14	1,03 $\pm$ 0,09	3,34 $\pm$ 0,45
7	1,00 $\pm$ 0,05	3,78 $\pm$ 0,09	0,91 $\pm$ 0,04	3,39 $\pm$ 0,19
8	1,72 $\pm$ 0,05	3,94 $\pm$ 0,28	1,16 $\pm$ 0,21	3,81 $\pm$ 0,35
9	2,71 $\pm$ 0,16	4,56 $\pm$ 0,60	0,89 $\pm$ 0,08	2,25 $\pm$ 0,31
10	1,24 $\pm$ 0,18	2,79 $\pm$ 0,37	1,75 $\pm$ 0,29	1,07 $\pm$ 0,12
11	2,05 $\pm$ 0,19	5,93 $\pm$ 1,02	1,12 $\pm$ 0,15	4,38 $\pm$ 0,23
12	1,32 $\pm$ 0,12	1,98 $\pm$ 0,09	0,87 $\pm$ 0,07	3,29 $\pm$ 0,52
Means $\pm$ SD	1,80 ^a $\pm$ 0,58/32,1	3,83 ^b $\pm$ 2,2/57	1,15 $\pm$ 0,36 ^c /30,8	2,97 ^d $\pm$ 1,2/39

Порівняно з *U. minor* активність у листі *U. pumila* була зниженою в 2,6 рази. Мінливість показників GPx була найвищою у дерев II в.к. (57%).

У листі рослин в'яза низького I в.к. активність каталази виявилась найвищою порівняно з з іншими віковими групами: у 8 разів порівняно з II в.к. і на 57,8% порівняно із старими деревами (табл. 4.3).

Таблиця 4.3.

Активність каталази та значення коефіцієнта варіації у листках роду *Ulmus*, уражених грибами *T. ulmicola*

Number of leaves (july)	CAT, mM H ₂ O ₂ / mg protein*min			
	<i>U. minor</i> , I	<i>U. pumila</i> , II	<i>U. pumila</i> , III	<i>U. minor</i> , III
1	181,87 ± 0,31	20,30 ± 0,13	179,62 ± 6,05	408,50 ± 8,21
2	194,63 ± 1,05	32,15 ± 1,02	289,29 ± 4,25	300,39 ± 5,65
3	176,82 ± 2,14	48,43 ± 1,35	213,70 ± 2,36	147,79 ± 2,83
4	217,69 ± 4,07	16,19 ± 0,64	39,12 ± 0,75	163,57 ± 4,71
5	234,87 ± 2,23	23,64 ± 0,55	43,58 ± 0,51	102,37 ± 1,52
6	260,16 ± 1,46	30,08 ± 0,38	29,76 ± 1,03	133,69 ± 0,85
7	187,24 ± 0,92	9,75 ± 0,04	125,58 ± 3,68	181,20 ± 3,36
8	201,76 ± 3,77	27,32 ± 2,15	132,32 ± 2,45	156,83 ± 3,25
9	180,34 ± 0,87	12,51 ± 0,31	138,12 ± 0,95	121,46 ± 1,94
10	212,98 ± 5,16	15,76 ± 1,74	121,02 ± 3,16	175,64 ± 7,43
11	227,82 ± 6,65	49,80 ± 2,09	223,28 ± 5,29	208,55 ± 4,06
12	215,15 ± 3,09	23,58 ± 3,11	42,92 ± 0,35	364,92 ± 9,14
Means ± SD	207,61 ± 25,4 ^a /12,2	25,79 ± 12,8 ^b /49,8	131,53 ± 83,7 ^c /63,6	205,41 ± 98,8 ^{ad} /48,1

Аналіз каталази показав, що активність в листі *U. minor* була на рівні рослин I в.к. в'яза низького, але порівняно із II і III в.к. виявилась підвищеною у 8 разів і на 56,2% відповідно. Мінливість показників каталази виявилась високою у всіх досліджених дерев, окрім I в.к. Особливо це стосується старших дерев *U. pumila*, у яких цей показник сягав 63,4%.

4.2. Вплив патогену на ізоферментний склад

Інфекція збудника може викликати як швидку активацію пероксидаз, так її зниження, що часто супроводжується появою множинних нових форм і/або зникнення інших форм ферменту. Ізоелектрофокусування ВРх у бруньках проводили для визначення вмісту ізоферментів в уражених фітопатогеном дерев в'язів III в.к. За даними ІЕФ профілів бруньок інфікованих грибом старих дерев виявлено високу гетерогенність пероксидази (рис 4.1).

У цілому кількість ізоформ ферменту коливалась від 11 до 15. За ІЕФ спектрами *U. minor* показав чітку відмінність від *U. rumila* і містив 10 компонентів (рис. 4.1.). Відрізнялись за типами спектрів ізоформи ВРх у бруньках дерев 5, 6 і порослі 7.

У дерев в'яза низького зареєстровано 1-4 компоненти в більш лужній області рН (рис. 4.1). Фіксувалась суттєва варіація питомої ваги ізопероксидаз. Пікова активність ферменту припадала на ізоформи 10-12 (дерева 1, 2); 10-12 і 11-13 (дерево 3); 7-10 (дерево 4) у найбільш кислому діапазоні рН. Значними коливаннями активності відзначалась ізоформа з R_f 0,61, питома вага якої варіювала від 5,0 до 12,6%, а у компонента з R_f 0,76 - від 6,9 до 14,7%. Фіксувалися суттєві зміни у співвідношенні питомої ваги ізоформ з R_f 0,65 і 0,68 від 1,3 до 3,4.

Аналіз спектрів молодого листя різних дерев в'яза низького, порослі і в'яза польового, зібраного у травні, також показав різні профілі ВРх (рис. 4.2).

Це стосувалось як кількості форм ВРх, так і питомої ваги окремих ізопероксидаз. Кількість компонентів пероксидази варіювала від 8 до 12. У *Ulmus minor* фіксувалось 9-10 ізоформ ферменту.

Серпневе листя в'язів старшого віку (III) показало меншу кількість ізоформ ферменту, а саме: від 6 до 9 (рис. 4.3.).

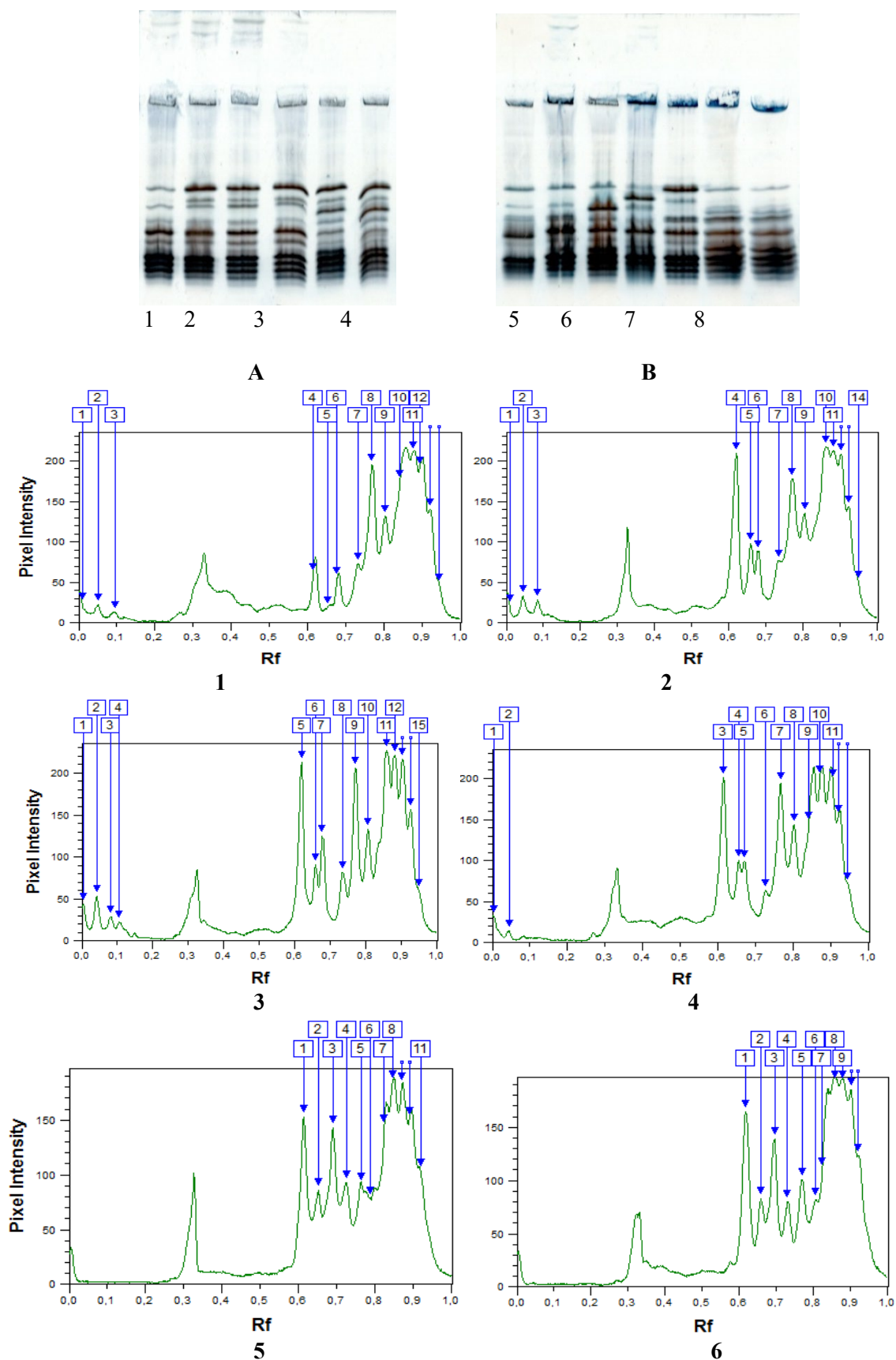


Рис. 4.1. Профіль IEF (А) та денситограма (В) бензидинпероксидази в бруньках *Ulmus*: 1 - 6: *U. pumila* (III); 7 - саджанець в'яза *U. pumila*; 8 - *U. minor* (III)



U. minor 1 2 *U. minor* *U. pumila* (6) *U. pumila* (5)

Рис. 4.2. Профіль ІЕФ бензидинпероксидази в молодому листі *Ulmus*: 1 – молодняк; *Ulmus pumila* - III в.к.; *Ulmus minor* - III в.к.
1, 2, 5, 6 - № дерев

Сильно відрізняється компонентний склад дерев 4 і 5 (рис. 4, лінії 5-7), хоча вони мають спільні зони з іншими деревами. Відзначаються суттєві варіації активності ізоформ пероксидази. ІЕФ аналіз ВРх окремих листків молодих дерев (I в.к.) у Серпні показав ідентичність спектрів, кількість ізоформ яких зменшений порівняно із старшими деревами до 7 (рис. 4.4).

Як показали наші обстеження в'язових насаджень та їх порослі, тільки старі дерева мають виражені симптоми захворювання тиростромозом, викликаним *Thyrostroma pumila*. Як показали результати з візуалізації росту грибкових гіф у листі в'язи уражуються у всіх вікових категоріях.

Каталази і пероксидази - ферменти, що представляють основний ферментативний механізм поглинання ROS у рослинах [27]. Різні ізоформи каталази беруть участь в елімінації перекису водню, що

утворюється під час фотодихання, β -окисленні жирних кислот і катаболізмі пуринів [28].

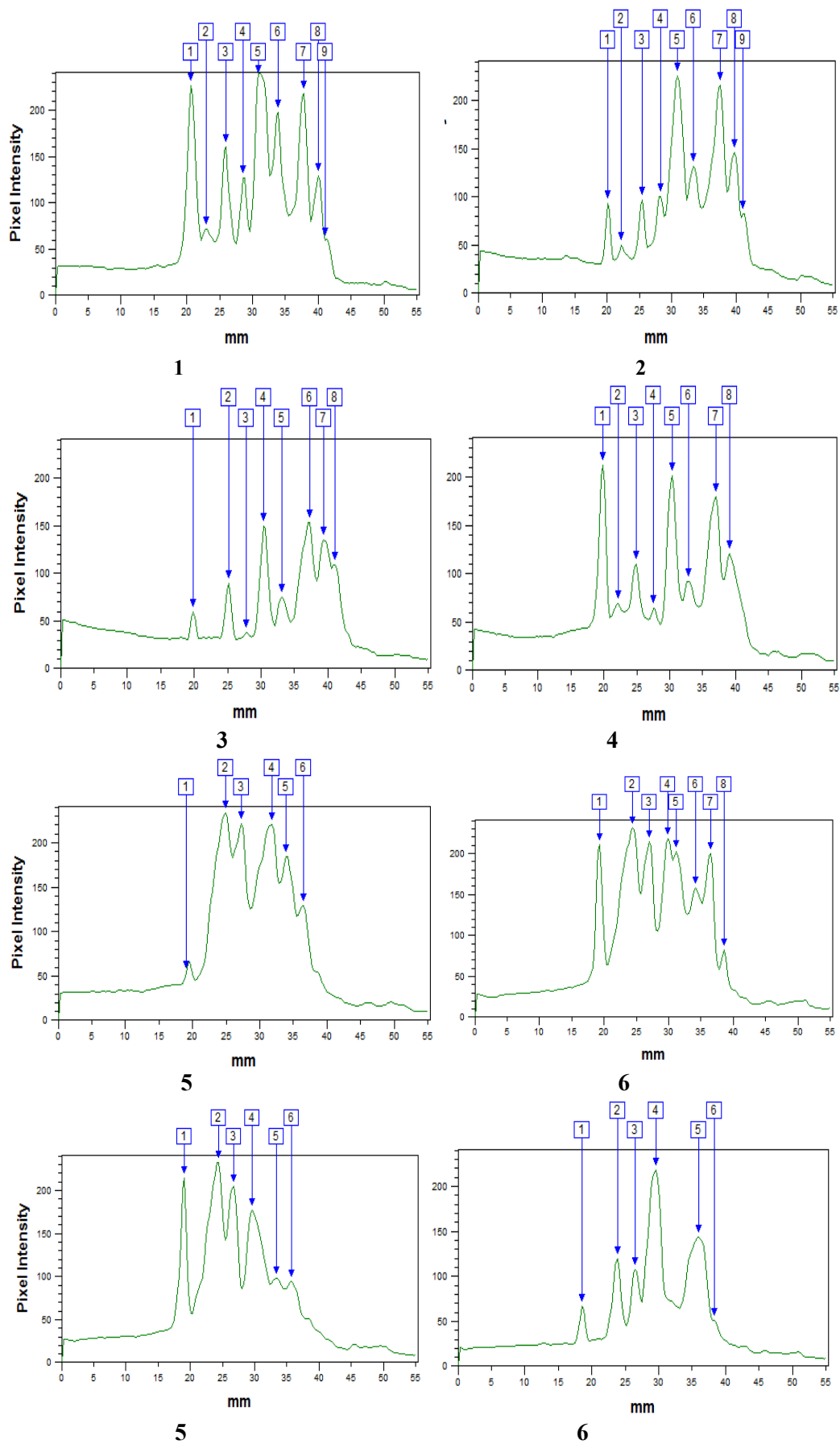
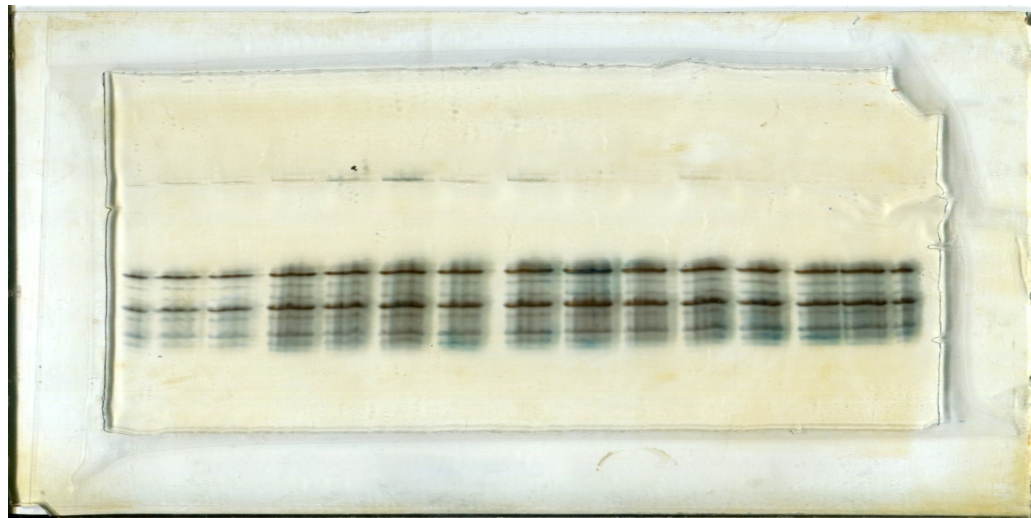


Рис. 4.3. Денситограма бензидинпероксидази в листках *Ulmus*



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Рис. 4.4. IEF-профіль бензидинпероксидази у *Ulmus rumila* листя 5-річного (№ 1-6) та 15-річного віку (№ 7-13)

Каталаза нейтралізує токсичні та нестабільні ROS і безпосередньо перетворює їх на кисень і воду та бере більшу участь у детоксикації H_2O_2 , а не в регуляції [29].

Наше дослідження показало, що найбільша активність каталази була спостережена у листі особин I в.к., яка з віком знижувалася, особливо у рослин II в.к. у 8 разів, а у старих дерев на 36,7% порівняно з I в.к., що підтверджується даними [30]. Згідно їх дослідженням у молодих рослин не виявлено підвищений рівень ROS і з віком знижувалась активність CAT. Kmiec et al. (2018) [31] пов'язують діяльність CAT також із фотосинтезом.

Їх дослідження задокументували вплив *T. ulmi* на фотохімію фотосинтезу різних видів в'яза. Можливим поясненням цього було зниження регуляції каталази, оскільки збільшення її активності в листках могло захистити хлоропласти, які представляли постійні електронні потоки та були основними виробниками ROS в умовах стресу [32].

Маї із співавторами (2013) [33] показано, що різна активність каталази у відповідь рослин на атаку Aphids свідчать про те, що рослини мають різні механізми стійкості до попелиць. Шим із співавторами (2003) [30] показали, що пригнічення активності САТ є явищем, яке відбувається у багатьох видів рослин, які піддаються окислювальному стресу, і пов'язане з накопиченням саліцилової кислоти.

Згідно з відомим дослідженням [35] , коли баланс ферментів-нейтралізаторів ROS змінюється, у рослинах індукуються компенсаторні механізми, такі як регуляція аскорбат- і гваякол-пероксидази і зниження регуляції САТ.

Пероксидази є членами великого сімейства мультигенних гемвмісних ферментів, які контролюють утворення ROS, коли рослини зазнають стресових факторів різного походження [36]. Найвищу активність цитоплазматичної пероксидази (ВРх) спостерігали у особин І і ІІ в.к. Натомість у рослин ІІ в.к. зафіксовано суттєве зниження її активності, яке компенсувалось підвищенням активності GРх порівняно з І і ІІІ в.к.

Аналогічні результати отримані, які продемонстрували зменшення активності GРх із прогресуванням захворювання у старших особин в'яза. Враховуючи, що активність гваяколової пероксидази пов'язують із синтезом у клітинних стінках лігніну і суберину, такі лігніфіковані та суберинізовані бар'єри в інфікованому листі можуть відігравати роль у блокуванні інвазії патогенів або дифузії токсинів з неї.

Тому однією з причин низької стійкості старих дерев можна вважати зниження бар'єрної функції клітин особин ІІІ в.к. для зменшення проникнення гіфів гриба у листя.

За даними [37] підвищена активність GPX, яку ми спостерігали у рослин середнього віку (II), здатна контролювати баланс між утворенням H_2O_2 і зниженням рівня H_2O_2 для зменшення окиснювального пошкодження рослинних клітин.

Крім того, реакційноздатні хінони та інші окислювальні радикали виробляються GPX у поєднанні з фенолами, які діють як стримувачі живлення та генерують токсини, які знижують засвоюваність рослинної тканини [38-40]. Оскільки нами встановлено зміни в активності антиоксидантних ферментів під впливом *T. ulmicola*, ми додатково досліджували вплив гриба на профілі ізоферментів ВРх.

Ми спостерігали високу генетичну різноманітність ІЕФ профілів ВРх листя і бруньок в'яза низького, а також місцевого вида *U. minor*. Причому, у листі старих дерев із симптомами хвороби у чотирьох дерев не виявлено появи додаткових зон. Основною закономірністю в ІЕФ спектрах був перерозподіл активності ізоформ пероксидази у різних особин в'яза. Посилення питомої ваги смуг могло свідчити про посилення активності ВРх в рослинах, інфікованих збудником.

Можна припустити, що активація пероксидази виникла внаслідок активації ізопероксидази, яка вже існує в клітині. Не можна також виключати, що підвищення активності ферменту можливо відбулося за рахунок пероксидази, яку синтезує сам збудник.

Три дерева *Ulmus rumila* показали спільність деяких ізоформ у в'яза низького і польового, що ймовірно може вказувати на гібридизацію між ними. Для з'ясування цього питання необхідні більш детальні дослідження, оскільки гібридні форми можуть використовувати інші механізми захисту проти впливу фітопатогена.

ВИСНОВКИ

У результаті виконання дипломної роботи було отримано наступні висновки:

1. Інфікування рослини-господаря фітопатогеном призводить до індукції швидких реакцій у рослин, таких як активація/гальмування ферментів, які відіграють ключову роль у захисті рослин від ракового захворювання, викликаного *T. ulmicola*. Значні відмінності були виявлені серед усіх вікових категорій в'язів за всіма виміряними біохімічними змінними.
2. У системі господар-патоген спостерігалось значне зниження активності каталази і гваякол-пероксидази, що збігалось з повним пошкодженням інфікованих тиростромозом гілок *U. rumila* (III в.к). Листя дерев II в.к, уражене патогеном, показали інший механізм протидії грибу, а саме шляхом суттєвої активації GPx.
3. Підвищена активність САТ є типовим неспецифічним захисним механізмом у взаємодії рослин і патогенів, який притаманний контрольним рослинам I в.к. Висока активність ферментів антиоксидантного захисту у *U. rumila* I в.к. і у *U. minor* III в.к. свідчить про ефективність системи у протидії тиростромозу.
4. Отримані результати можуть бути використані для програм раннього виявлення небезпечного захворювання в'язів з метою збереження дерев як джерел високої посухостійкості в умовах глобального потепління клімату.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Ulmus pumila* // County-level distribution map from the North American Plant Atlas (NAPA) / Biota of North America Program (BONAP). – 2014.
2. Fu L., Xin Y., Whitemore A. *Ulmaceae* // Flora of China. Vol. 5: *Ulmaceae through Basellaceae* / eds. Wu Z., Raven P. – Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2002.
3. Sherman-Broyles S.L. *Ulmus pumila* // Flora of North America North of Mexico. Vol. 3 / Ed. Committee of FNA. – New York; Oxford: Oxford University Press, 1997. – Via eFloras.org (Missouri Botanical Garden, Harvard University Herbaria).
4. Went J. The Dutch Elm Disease – Summary of fifteen years' hybridization and selection work (1937–1952) // *European Journal of Plant Pathology*. – 1954. – Vol. 60, No. 2. – P. 109–1276.
5. Hilty J. Siberian Elm (*Ulmus pumila*) // *Illinois Wildflowers*. – 2020. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.illinoiswildflowers.info> (дата звернення: 6.06.2023).
6. Townsend A.M. Crossability patterns and morphological variation among elm species and hybrids // *Silvae Genetica*. – 1975. – Vol. 24, No. 1. – P. 18–23.
7. Grbić M., Skočajić D., Đukić M., Đunisijević-Bojović D., Marković M. Mass clonal propagation of elm as a way for replacement of endangered autochthonous species // *Proceedings of International Conference Reforestation Challenges*, 3–6 June 2015, Belgrade, Serbia. – 2015. – P. 62.
8. *Ulmus pumila* // Germplasm Resources Information Network / Agricultural Research Service, United States Department of Agriculture. –

[Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://npgsweb.ars-grin.gov>
(дата звернення: 8.09.2016).

9. Solla A., Martín J.A., Corral P., Gil L. Seasonal changes in wood formation of *Ulmus pumila* and *U. minor* and its relation with Dutch elm disease // *New Phytologist*. – 2005. – Vol. 166, No. 3. – P. 1025–1034. – doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01384.x.
10. Zalapa J.E., Brunet J., Guries R.P. Genetic diversity and relationships among Dutch elm disease tolerant *Ulmus pumila* L. accessions from China // *Genome*. – 2008. – Vol. 51, No. 7. – P. 492–500. – doi:10.1139/G08-034.
11. Miller F., Ware G. Resistance of Temperate Chinese Elms (*Ulmus* spp.) to Feeding of the Adult Elm Leaf Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) // *Journal of Economic Entomology*. – 2001. – Vol. 94, №1. – P. 162–166. – DOI: 10.1603/0022-0493-94.1.162.
12. Blank S., Kohler T., Pfannenstill T., Liston A. Zig-zagging across Central Europe: recent range extension, dispersal speed and larval hosts of *Aproceros leucopoda* (Hymenoptera, Argidae) in Germany // *Journal of Hymenoptera Research*. – 2013. – Vol. 41. – P. 57–74. – DOI: 10.3897/JHR.41.8681.
13. Leopold D. J. Chinese and Siberian elms // *Journal of Arboriculture*. – 1980. – Vol. 6, №7. – P. 175–179. – [Accessed: 06.06.2023]. – Available from: *Arboriculture & Urban Forestry Online*.
14. Pegg G. F., Brady B. L. *Verticillium Wilts*. – Wallingford: CABI Publishing, 2002. – 528 p. – ISBN 978-0-85199-529-8.
15. Todzia C. A., Panero J. L. A new species of *Ulmus* (Ulmaceae) from southern Mexico and a synopsis of the species in Mexico // *Brittonia*. – 1998. – Vol. 50, №3. – P. 343–347. – DOI: 10.2307/2807778.
16. Elowsky C. G., Jordon-Thaden I. E., Kaul R. B. A morphological analysis of a hybrid swarm of native *Ulmus rubra* and introduced *U.*

- pumila (Ulmaceae) in southern Nebraska // *Phytoneuron*. – 2013. – №44. – P. 1–23.
17. Cogolludo-Agustín M. Á., Agúndez D., Gil L. Identification of native and hybrid elms in Spain using isozyme gene markers // *Heredity*. – 2001. – Vol. 85, №2. – P. 157–166.
18. National Audubon Society. Field Guide to North American Trees. Western Region. – New York: Chanticleer Press, 2002. – P. 419–420.
19. Cogolludo-Agustín M. Á., Agúndez D., Gil L. Identification of native and hybrid elms in Spain using isozyme gene markers // *Heredity*. – 2000. – Vol. 85, №2. – P. 157–166.
20. Herbarium specimen – E00824808; Herbarium specimen – E00824813 // *Herbarium Catalogue*. – Royal Botanic Garden Edinburgh. – 1902. – Access mode: <https://elmer.rbge.org>.
21. Marin-Felix Y. et al. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1 // *Studies in Mycology*. – 2017. – Vol. 86. – P. 99–216.
22. Neyko I.S., Monarkh V.V. The current state and reasons of deterioration of linden trees (*Tilia platyphyllos* Scop.) on Soborna street in Vinnytsia // *Internauka – Multidisciplinary International Scientific Journal*. – 2017. – №2 (24). – P. 114–119.
23. Crous P.W., Wingfield M.J., Groenewald J.Z. et al. Fungal Planet description sheets: 400–468 // *Persoonia*. – 2016. – Vol. 36. – P. 316–458.
24. Senwanna C., Wanasinghe D.N., Bulgakov T.S., Wang Y. et al. Towards a natural classification of *Dothidotthia* and *Thyrostroma* in *Dothidotthiaceae* (Pleosporineae, Pleosporales) // *Mycosphere*. – 2019. – Vol. 10. – P. 701–738.
25. Yavny M.I., Puzrina N.V. Bacterial disease of *Ulmus glabra* Huds. in the stands of the Kyiv Polissia of Ukraine // *Microbiological Journal*. – 2018. – Vol. 80, №1. – P. 67–76. – [in Ukrainian]. – DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj80.01.067>.

26. Bilgin D.D. ROS, oxidative stress and engineering resistance in higher plants / ed. S.D. Gupta. – Enfield, NH: Science Publishers, 2010. – 368 p.
27. Pandey S., Fartyal D., Agarwal A., Shukla T., James D. et al. Abiotic stress tolerance in plants: Myriad roles of ascorbate peroxidase // *Frontiers in Plant Science*. – 2017. – Vol. 8. – Art. 581.
28. Sofo A., Scopa A., Nuzzaci M., Vitti A. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – Vol. 16. – P. 13561–13578.
29. Apel K., Hirt H. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction // *Annual Review of Plant Biology*. – 2004. – Vol. 55. – P. 373–399.
30. Shim I.S., Momose Y., Yamamoto A.Y., Kim D.W., Usui K. Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants // *Plant Growth Regulation*. – 2003. – Vol. 39. – P. 285–292.
31. Kmiec K., Rubinowska K., Michalek W., Sytykiewicz H. The effect of galling aphids feeding on photosynthesis photochemistry of elm trees (*Ulmus* sp.) // *Photosynthetica*. – Vol. 56. – P. 989–997.
32. Foyer C.H., Shigeoka S. Understanding oxidative stress and antioxidant functions to enhance photosynthesis // *Plant Physiology*. – 2011. – Vol. 155. – P. 93–100.
33. Mai V.C., Tran N.T., Nguyen D.S. The involvement of peroxidases in soybean seedlings' defense against infestation of cowpea aphid // *Arthropod-Plant Interactions*. – 2016. – Vol. 10. – P. 283–292.
34. Mai V.C., Bednarski W., Borowiak-Sobkowiak B., Wilkaniec B., Samardakiewicz S., Morkunas I. Oxidative stress in pea seedling leaves in

- response to *Acyrtosiphon pisum* infestation // *Phytochemistry*. – 2013. – Vol. 93. – P. 49–62.
35. Martín J.A., Sobrino-Plata J., Coira B., Medel D., Collada C., Gil L. Growth resilience and oxidative burst control as tolerance factors to *Ophiostoma novo-ulmi* in *Ulmus minor* // *Tree Physiology*. – 2019. – Vol. 39, №9. – P. 1512–1524.
36. Pem D., Jeewon R., Bulgakov T., Gafforov Y., Hongsanan S., Phookamsak R., Xu J.-C., Promputtha I., Doilom M., Hyde K.D. Taxonomy and molecular phylogeny of *Thyrostroma ephedricola* sp. nov. (*Dothidiotthiaceae*) and proposal for *Thyrostroma jaczewskii* comb. nov. // *Phytotaxa*. – 2019. – Vol. 416, №4. – P. 243–256.
37. War A.R., Paulraj M.G., Ahmad T., Buhroo A.A., Hussain B., Ignacimuthu S., Sharma H.C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores // *Plant Signaling & Behavior*. – 2012. – Vol. 7. – P. 1306–1320.
38. Мешкова В. Листогризні *Lepidoptera* (Insecta) у листяних лісах України за останні 70 років // Наукові праці Лісівничої академії наук України. – 2021. – Вип. 22. – С. 173–179. – (Proceedings of the Forestry Academy of Sciences of Ukraine).
39. Kuznetsova O.A., Turenko V.P., Tovstukha O.V., Davydenko K.V. Pest and disease incidence of *Ulmus* sp. in forest shelter belts along the Kyiv–Kharkiv highway // *Forestry and Forest Melioration*. – 2023. – №143. – P. 102–111.
40. Cogolludo-Agustín M.Á., Agúndez D., Gil L. Identification of native and hybrid elms in Spain using isozyme gene markers // *Heredity*. – 2000. – Vol. 85. – P. 157–166.